Московский государственный университет
им. М.В. Ломоносова

Факультет почвоведения

ПРАКТИКУМ ПО АГРОХИМИИ

2-е издание, переработанное и дополненное

Под редакцией академика РАСХН Минеева В.Г.

Допущено Министерством образования Российской Федерации
в качестве учебного пособия
для студентов высших учебных заведений,
обучающихся по направлению подготовки бакалавров
и магистров «Почвоведение» и специальности подготовки
дипломированных специалистов «Почвоведение»

Издательство Московского университета
2001

УДК 63:54

ББК 40.4

П 69

Авторы: В.Г. Минеев, В.Г.Сычев, О.А. Амельянчик, Т.Н. Болышева, Н.Ф. Гомонова, Е.П. Дурынина, В.С. Егоров, Е.В. Егорова, Н.Л. Едемская, Е.А. Карпова, В.Г. Прижукова.

Практикум по агрохимии: Учеб. пособие. – 2-е изд., перераб. и доп./ Под ред. академика РАСХН В.Г.Минеева. – М.: Изд-во МГУ, 2001.–689 с. - ISBN 5-211-04265-4

В практикум включены методы лабораторных исследований, которые используют при обучении студентов на факультетах агрохимии и почвоведения. Особое место отведено технике лабораторных работ, включая самые современные инструментальные методы.

Для студентов и аспирантов почвенно-агрохимических и агрономических специальностей университетов.

УДК 63:54

ББК 40.4

П 69

ISBN 5-211-04265-4

© Московский государственный университет, 2001

ОТ РЕДАКТОРА

Выход в свет второго, дополненного и переработанного издания «Практикума по агрохимии» связано с необходимостью методологического обеспечения агрохимических исследований по более широкому набору показателей, а также со знакомством с новыми инструментальными методами анализа, нашедшими повсеместное применение в практике агрохимических исследований. Интерес представляют спектроскопические методы анализа, особенно атомно-абсорбционная спектрофотометрия и спектроскопия в ближней ИК-области. В научно-исследовательских учреждениях и высших учебных заведениях широко применяются поляриметрические, ионометрические, рентгенофлуоресцентные, атомно-эмиссионные, нейтронно-активационные, хроматографические методы анализа почвы, растений и удобрений.

Поэтому, прежде всего, важно ознакомить пользователя с принципами и особенностями инструментальных методов анализа. Кроме того, в данном учебном пособии излагаются методы анализа разных типов почв, принятые в агрохимической практике при исследовании физико-химических и химических свойств, содержания различных форм биогенных макро- и микроэлементов, а также токсичных веществ. Данные этих анализов позволяют оценить агрохимические свойства и плодородие почв, их экологическое состояние.

Уделено большое внимание описанию не только классических методов анализа почвы, но их модификаций, разработанных Центральным НИИ агрохимического обслуживания сельского хозяйства (ЦИНАО), которые стандартизированы и получили распространение в агрохимслужбе России и в странах СНГ.

Авторы считают важным исследование биологической активности почвы по таким показателям, как интенсивность дыхания, азотфиксация, денитрификация, нитрификационная и ферментативная активность и др., что способствует более объективной оценке степени окультуренности почвы или ее деградации.

При анализе растений рекомендуются методы определения содержания макро- и микробиогенных микроэлементов, наиболее распространенных токсичных тяжелых металлов, а также хлоридов, фторидов и др. Представлены методы аналитического определения содержания в растениях селена, мышьяка, хрома, ртути, которым ранее не уделялось должного внимания.

Уделено внимание описанию методов определения в растениях азотистых и фосфорсодержащих органических соединений, углеводов, жиров, витаминов и других веществ, что важно при проведении не только агрохимических и агроэкологических анализов, но и прикладных биохимических исследований культурных растений.

В данном руководстве имеются по существу все методы анализа минеральных и органических удобрений, применяемые в практике агрохимических исследований. При этом излагаются не только методы, описанные в классической научной литературе, но и модификации ЦИНАО, гостированные для широкого использования в практике агрохимслужбы.

Практикум по агрохимии знакомит пользователя и с методами расчета доз удобрений с учетом вида культуры, плодородия почвы, планируемого урожая. Уделяется внимание технике постановки и ведения полевых, вегетационных и лизиметрических опытов в агрохимических исследованиях. Представлена методика статистической обработки данных агрохимических экспериментов.

Без преувеличения можно сказать, что настоящее практическое руководство по проведению агрохимических анализов носит энциклопедический характер и рекомендуется для широкого использования не только при подготовке студентов соответствующего профиля в высших учебных заведениях, но и в научно-исследовательских учреждениях, в подразделениях системы агрохимслужбы, при организации агрохимических лабораторий в связи с обслуживанием различных форм многоукладного сельского хозяйства.

В.Г. Минеев академик РАСХН.

Раздел I

ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

СПЕКТРОСКОПИЧЕСКИЕ (ОПТИЧЕСКИЕ) МЕТОДЫ АНАЛИЗА

Спектроскопические методы анализа основаны на взаимодействии вещества с электромагнитным излучением.

По значению используемых длин волн принято различать следующие разновидности методов оптической спектроскопии:

- ультрафиолетовая (180 – 400 нм);
- спектроскопия в видимой области (400 – 700 нм);
- спектроскопия в ближней (обертонной) инфракрасной области (740 – 2500 нм или 4000 – 10000 $см^{-1}$);
- инфракрасная спектроскопия в основной области (2500 – 20000 нм или 200 – 4000 $см^{-1}$).

Взаимодействие вещества с электромагнитным излучением сопровождается различными явлениями, наиболее важными из которых для современного аналитического применения являются испускание, поглощение, отражение, рассеяние, преломление, вращение плоскости поляризации излучения.

В зависимости от использования того или иного явления оптические методы анализа можно разделить на следующие группы:

1) методы, основанные на поглощении (абсорбции) веществом электромагнитного излучения (спектрофотометрия, фотометрия, атомно-абсорбционный метод);

2) эмиссионные методы, в основе которых лежит способность вещества испускать электромагнитные волны под действием дополнительной энергии (источника возбуждения). В зависимости от формы возбуждения атомов эмиссионные методы делятся на фотометрию пламени, эмиссионный спектральный анализ, атомно-флуоресцентный, люминесцентный, атомно-эмиссионный с индуктивно связанной аргоновой плазмой (ИСП) и др.;

3) рефрактометрический метод анализа, основанный на изменении величины показателя преломления света при переходе из одной прозрачной среды в другую, и поляриметрический метод, в котором используют способность оптически активных веществ вращать плоскость поляризации поляризованного луча света.

Спектрофотометрия

Теория вопроса, значение и принцип метода

Спектроскопию в видимой и УФ-областях традиционно называют спектрофотометрией.

Спектрофотометрия основана главным образом на измерении поглощения веществом монохроматических излучений (включая случаи использования приборов, имеющих упрощенный способ монохроматизации с помощью светофильтров).

Сложная кривая зависимости светопоглощения от длины волны называется спектром поглощения вещества.

В практике спектрофотометрии используют различные химические реакции, приводящие к образованию соединений, обладающих сравнительно большими поглощающими свойствами. Чаще всего используют реакции комплексообразования.

Количественные закономерности поглощения веществом электромагнитного излучения подчиняются закону Бугера-Ламберта:

$$I = I_0\, 10^{-kl} \qquad (1)$$

где I_0 – интенсивность падающего потока излучения, I – интенсивность потока излучения, прошедшего через вещество; k – коэффициент поглощения (соответствует величине, обратной толщине поглощающего слоя, необходимой для ослабления интенсивности падающего излучения в 10 раз); l – толщина поглощающего слоя.

Логарифм отношения I_0/I принято называть оптической плотностью и обозначать символом D: $D = lg(Io\,/I)$.

Отношение I/I_0 называется коэффициентом пропускания (T) и выражается обычно в %: $T = 100\, I/I_0$.

Коэффициент поглощения k, фигурирующий в формуле (1), связан с концентрацией поглощающего компонента C соотношением (закон Бера):

$$k = \varepsilon C,$$

где C – молярная концентрация компонента, ε – молярный коэффициент погашения (численно равен оптической плотности раствора с концентрацией 1 моль/л при толщине поглощающего слоя в 1 см).

Объединенный закон Бугера-Ламберта-Бера выражается уравнением:

$$D = \varepsilon C\, l.$$

Оптическая плотность прямо пропорциональна концентрации вещества в растворе и толщине поглощающего слоя. Графически эта зависимость выражается прямой линией, называемой градуировочным графиком.

Поведение светопоглощающих систем подчиняется закону Бугера-Ламберта-Бера лишь при монохроматичности излучения и отсутствии химических изменений в поглощающей системе.

Аппаратура

Прибор для измерения светопоглощения должен выполнять две основные задачи: 1) разложение полихроматического света и выделение нужного интервала длин волн, 2) измерение поглощения света веществом.

Каждый абсорбционный прибор включает: источник излучения, устройство для выделения нужного интервала длин волн, кюветное отделение, детектор, индикатор сигнала.

Источники. В спектрофотометрии в качестве источника в основном используют лампы накаливания, испускающие непрерывное излучение. В ближней УФ, видимой и ближней ИК-областях – это вольфрамовые лампы, в УФ-области – водородные, дейтериевые, ксеноновые лампы. Для калибровки спектрофотометров используют ртутную лампу.

Светофильтры и монохроматоры служат для выделения из потока излучения достаточно узкого спектрального интервала. Каждый светофильтр характеризуется величиной λ (в максимуме пропускания T_{max}) и полушириной пропускания $\lambda_2 - \lambda_1$ при 1/2 T_{max} (рис. 1). Чем меньше абсолютная величина полуширины пропускания, тем более узкий участок спектра можно выделить светофильтром. Цвет светофильтра обычно совпадает с участком выделяемого спектра.

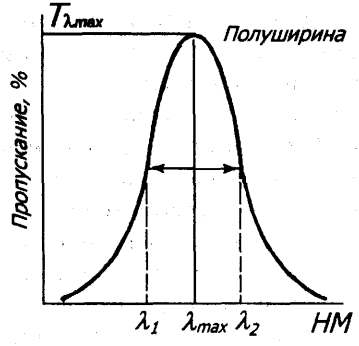


Рис. 1. Оптическая схема характеристики светофильтра (по Полуэктову)

Светофильтр для работы выбирают таким образом, чтобы выделить область спектра, которую наиболее полно поглощает анализируемое вещество. Для этого готовят два раствора исследуемого вещества с таким расчетом, чтобы концентрации их немного различались. Оба раствора фотометрируют с различными светофильтрами. Тот светофильтр, при котором разность в показаниях оптической плотности будет наибольшая, выбирают для дальнейшей работы.

Светофильтры не обеспечивают высокой монохроматизации излучения, что при измерении растворов с высокой концентрацией анализируемого вещества приводит к отклонению от линейной зависимости между величинами D и C (закона Бугера-Ламберта-Бера).

Использование прибора с монохроматором в большинстве случаев делает возможным количественное определение тех же растворов.

Монохроматоры позволяют разложить непрерывное излучение на монохроматические составляющие при помощи призм или дифракционных решеток. Ширина выделяемого спектрального интервала зависит от конструкции прибора.

Кюветы. В спектрофотометрии измеряют не абсолютное значение оптической плотности, а разность оптических плотностей исследуемого раствора и раствора сравнения. Кювету с исследуемым раствором называют рабочей, а с раствором сравнения – кюветой сравнения. Кюветы бывают различной формы и с различной шириной поглощающего слоя (от 0,2 до 100 мм). Точная ширина поглощающего слоя обозначена на рабочей грани кюветы. В приборе кювету располагают таким образом, чтобы ее рабочая грань была перпендикулярна направлению потока излучения.

Для работы кювету выбирают следующим образом: в одну из кювет набора наливают раствор средней концентрации (из серии приготовленных анализируемых растворов) и измеряют его оптическую плотность с предварительно выбранным светофильтром. Кювету оставляют для работы, если измеренная оптическая плотность находится в пределе 0,3 – 0,5.

Для фотометрирования растворов в видимой области спектра используют кюветы из шлифованного оптического стекла, для работы в ультрафиолетовой области – из шлифованного кварца.

Детекторы. Для детектирования излучения применяют устройства, основанные на явлении фотоэффекта, – фотоэлементы. Для приема сигнала в видимой и УФ-областях обычно используют сурьмяно-цезиевый (180 – 650 нм) и кислородно-цезиевый (600 – 1100 нм) фотоэлементы, а также фотоумножители. Если интенсивность падающего потока невелика, фиксировать импульсы от отдельных фотонов можно с помощью специальных электронных устройств – счетчиков фотонов.

В качестве индикаторов сигнала используют гальванометры или миллиамперметры.

ПРИНЦИПИАЛЬНЫЕ СХЕМЫ ПРИБОРОВ

В зависимости от способа измерения различают одно- и двухлучевые приборы, от способа монохроматизации – фотоэлектроколориметры и спектрофотометры.

Фотоэлектроколориметры имеют простую конструкцию, их чаще используют для выполнения серийных анализов.

ДВУХЛУЧЕВЫЕ ПРИБОРЫ. В этих приборах излучение от источника разделяется на два потока. Один проходит через анализируемый раствор, другой – через раствор сравнения. В приборе с двумя

детекторами сигнал регистрируется компенсационным методом (световые потоки уравниваются путем изменения ширины щели (диафрагмы). Обычно изменяющаяся диафрагма связана с барабаном, на который нанесены соответствующие шкалы в единицах пропускания или оптической плотности. Примером таких приборов служат фотоэлектроколориметры ФЭК-М, ФЭК-56.

В приборах с одним детектором используют попеременную (при помощи модулятора) подачу сигнала световых потоков, прошедших через рабочую кювету и кювету сравнения. Оба потока складываются, на один фотоэлемент попадает суммарный поток излучений. Сигнал регистрируется компенсационным методом. Подобную оптическую схему имеет фотоэлектроколориметр ФЭК-60 (рис. 2).

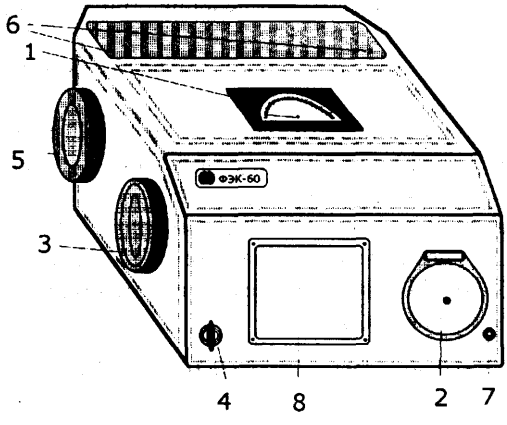


Рис. 2.
Фотоколориметр
ФЭК-60:

1 – нулевой гальванометр,
2 – барабан измерительной диафрагмы,
3 – барабан компенсационной диафрагмы,
4 – рукоятка потенциометра,
5 – рукоятка переключения светофильтров,
6 – отделение для светофильтров,
7 – кнопка для включения высокой чувствительности,
8 – отделение для фотоэлементов

Двухлучевые спектрофотометры устроены по тому же принципу, что и фотоэлектроколориметры, но схемы их более сложные. Детектирование всегда осуществляется одиночным детектором. Примером таких спектрофотометров служат СФ-10, СФ-14.

ОДНОЛУЧЕВЫЕ ПРИБОРЫ. В этом типе приборов излучение от источника проходит только через рабочую кювету или кювету сравнения поочередно. При прохождении светового потока через кювету сравнения возникший фототок (отклонение стрелки гальванометра) компенсируют изменением ширины щели. После этого на пути светового потока помещают рабочую кювету и вызванное изменение фототока компенсируют потенциометром, на шкале которого нанесены единицы пропускания или оптической плотности. По принципу однолучевой схемы работают колориметр фотоэлектрический однолучевой (КФО),

колориметр фотоэлектрический концентрационный КФК-2 (рис. 3), спектроколориметр «Спекол» (рис. 4), спектрофотометры СФ-4, СА-16, СФ-26, СФ-46 (рис. 5) и др.

ПОРЯДОК РАБОТЫ НА ПРИБОРАХ

ФОТОЭЛЕКТРОКОЛОРИМЕТР ФЭК-60. Общий вид прибора показан на рис. 2. Прибор готовят к работе в соответствии с инструкцией по эксплуатации.

Проведение измерений

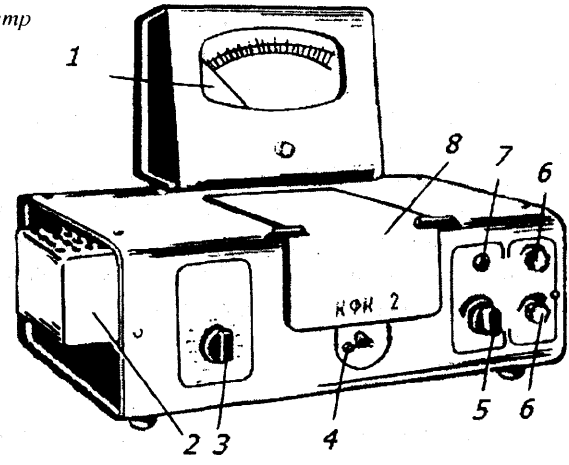
1. Рукояткой 5 устанавливают нужный светофильтр.
2. Перед началом измерений проверяют «электрический нуль»: при закрытых измерительной 2 и компенсационной 3 диафрагмах рукояткой потенциометра 4 устанавливают нуль на гальванометре 1.
3. Измерительный барабан 2 устанавливают на деление 100 % пропускания.
4. В левый световой поток (от наблюдателя) помещают кювету сравнения, в правый – рабочую кювету.
5. Вращением компенсационного барабана 3 устанавливают стрелку гальванометра на нуль. Затем нажимают кнопку высокой чувствительности 7 и более точно подводят стрелку к нулю.
6. В правый световой поток вместо рабочей кюветы помещают вторую кювету сравнения и приводят показания гальванометра к нулю с помощью измерительного барабана, по которому и отсчитывают величину оптической плотности или пропускания.

КОЛОРИМЕТР ФОТОЭЛЕКТРИЧЕСКИЙ КОНЦЕНТРАЦИОННЫЙ КФК-2. Общий вид прибора показан на рис. 3.

Проведение измерений

1. Рукояткой 3 устанавливают нужный светофильтр.
2. Применяя светофильтры с маркировкой 540 нм и менее, ручку 5 «Чувствительность» устанавливают в одно из положений, отмеченных черным цветом («1», «2», «3»). При использовании светофильтров с маркировкой 590 нм и более ручку 5 «Чувствительность» устанавливают в одно из положений, отмеченных красным цветом.
3. В световой поток помещают кювету сравнения, закрывают крышку кюветного отделения и ручками 6 («100 грубо» и «Точно») устанавливают отсчет 100 по шкале 1. Затем поворотом ручки 4 кювету сравнения заменяют рабочей кюветой.
4. Снимают отсчет, соответствующий коэффициенту пропускания анализируемого раствора. По стандартным растворам строят градуировочный график.

Рис. 3.
Фотоколориметр КФК-2:



1 – микроамперметр,
2 – источник освещения,
3 – ручка переключения длин волн,
4 – ручка смены кювет,
5 – «чувствительность» (переключатель фотоприемников),
6 – установка «100»,
7 – тумблер включения прибора,
8 – кюветная камера

СПЕКТРОКОЛОРИМЕТР «СПЕКОЛ». Прибор в зависимости от модификации может иметь гальванометр для прямого отсчета оптической плотности по отклонению стрелки или цифровую обработку сигнала. Внешний вид спектроколориметра «Спекол» (с цифровой индикацией сигнала и проточной кюветой) показан на рис. 4 А.

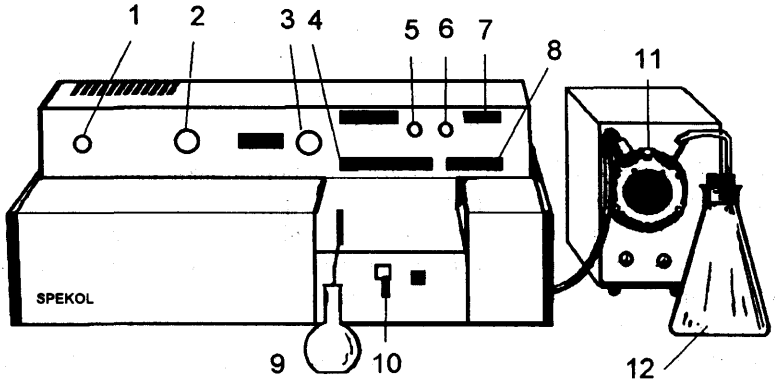
Проведение измерений

1. Прибор включают в соответствии с инструкцией по эксплуатации. Устанавливают необходимую длину волны ручкой 3 и требуемую ширину щели ручкой 2.
2. Режим работы задают нажатием клавишей «T», «□» и «R» на клавиатуре управления 4.
3. С помощью ручек грубой (5) и тонкой (6) настройки устанавливают значение пропускания 100 %.
4. Подключают насос 11 и промывают кювету раствором сравнения при помощи рычага 10. При нажатии рычага кювета опускается, а при опускании – заполняется раствором.
5. При отклонении значения пропускания от величины 95 – 105 %, его следует повторно отрегулировать ручками 5 и 6.
6. Нажимают клавишу «R» для автоматической установки значения пропускания на 100 %.
7. При измерении экстинкции нажимают клавишу «E», концентрации – клавишу «C».

8. При измерении концентрации в процессе калибровки определяют значение калибровочного коэффициента F (C = F · E). Для этого кювету заполняют стандартным раствором, вводят его концентрацию с помощью клавиатуры 8 и нажимают клавишу «F».
9. В левом табло появляется значение коэффициента F, который вводят с помощью клавиатуры 8 в правое табло 7.
10. Нажатием кнопки ▢ на клавиатуре 4 выбирают режим индикации результата по вызову, после чего каждое показание левого табло сохраняется до очередного нажатия кнопки ☝ клавиатуры 4.
11. Заполняют кювету исследуемой жидкостью и нажимают кнопку ☝ на клавиатуре 4. В левом табло появляется значение концентрации (или экстинкции).

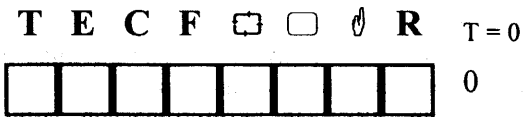
Рис. 4.

А. Внешний вид спектроколориметра Spekol:



1 – тумблер включения питания, 2 – ручка установки ширины щели монохроматора,
3 – ручка установки длины волны, 4 – клавиатура управления режимом работы,
5, 6 – ручки грубой и тонкой установки нулевых значений и оптической плотности или 100 % пропускания, 7 – показания, 8 – клавиатура для проведения калибровки,
9 – исследуемый раствор, 10 – рычаг для введения пробы, 11 – насос, 12 – слив

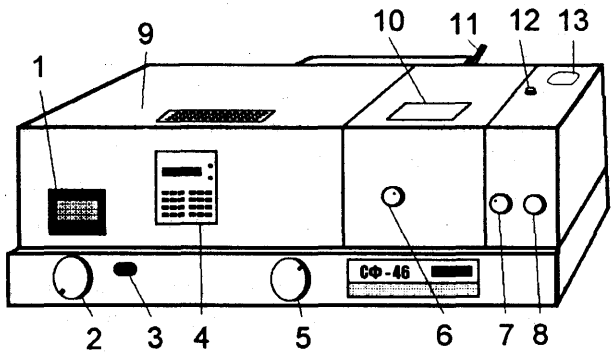
Б. Вид клавиатуры управления 4



СПЕКТРОФОТОМЕТР СФ-46 (рис. 5).

Рис. 5.

А. Общий вид спектрофотометра СФ-46:



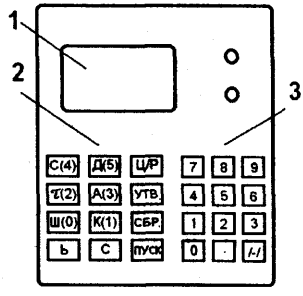
1 – отсчетное устройство установки длин волн, 2 – ручка поворота дифракционной решетки, 3 – кнопка «сеть», 4 – клавиатура управления микропроцессорной системой (МПС) прибора, 5 – переключатель щели, 6 – ручка для перевода образцов, 7 – ручка переключения шторки, 8 – ручка установки нуля, 9 – крышка монохроматора, 10 – крышка кюветного отделения, 11 – рычаг смены источников излучения, 12 – рычаг переключения фотоэлементов, 13 – отсек камеры фотоэлементов

Б. Вид блока МПС (микропроцессорной системы) прибора:

1 – индикаторное табло,

2 – функциональная клавиатура,

3 – цифровая клавиатура



Проведение измерений

1. При включении прибора ручка 7 должна находиться в положении «ЗАКР.», ширина щели быть минимальной – 0,15 нм (установить ручкой 5).

2. Включение осуществляется в соответствии с инструкцией по эксплуатации. На пульте управления нажать кнопку «СЕТЬ», при этом должна загореться сигнальная лампа. На клавиатуре управления микропроцессорной системой (МПС) 4 нажать клавишу «пуск» (на табло высветится запятая).

3. Поворотом рычага 11 включить источник излучения («Н» – лампа накаливания, «D» – дейтериевая лампа).
4. Ручкой 2 установить требуемую длину волны.
5. Поставить фотоэлемент (ручка 12) в положение «закрыто» и установить нулевое значение темнового тока фотоэлемента. Для этого необходимо нажать клавишу «Ш(0)» и отрегулировать ручкой 8 на табло значение в диапазоне от 0,05 до 0,1. Это значение автоматически заносится в память МПС.
6. Установить в кюветное отделение рабочую кювету и кювету сравнения, выбрать необходимую ширину щели. Для этого нужно поставить ручку 7 в положение «открыто» и нажать клавишу «К(1)». Значение, высветившееся на табло, должно лежать в пределах 0,5 – 5. Если показание меньше 0,5, то следует увеличить ширину щели, если больше 5, то уменьшить.
7. Для определения коэффициента пропускания необходимо нажать клавишу «τ(0)», на табло слева появится индекс «2», для измерения оптической плотности – клавишу «D(5)», слева загорится индекс «5».

МПС спектрофотометра позволяет рассчитывать *концентрацию компонента* (с) по формуле: $c = (D - C) / B$,
где C и B - константы, определяемые из калибровки.
Для определения концентрации следует проделать описанные выше операции, необходимые для установки нулевых показаний прибора. Затем ввести в память МПС значения констант C и B. Для этого следует нажать соответствующую клавишу (С или В), нажать клавишу «СБР.» (сброс), набрать нужное значение вводимой константы и нажать клавишу «УТВ.». Открыть ручкой 7 шторку, нажать клавишу К(1) и снять показания прибора для раствора сравнения, аналогичным образом провести измерение исследуемого раствора, затем нажать клавишу С(4) – на табло появятся показания в единицах концентрации.

Спектрофотометрический метод широко ***используют для определения тяжелых металлов в почве и растениях*** (подробное изложение дано в последующих разделах). В основе этого метода лежит способность некоторых органических реактивов образовывать прочные окрашенные комплексы с ионами металлов IV – VI периодов таблицы Менделеева. Наиболее широко применяемым реактивом является дитизон (дифенилтиокарбазон) и некоторые его производные.

На реакциях образования окрашенных внутрикомплексных соединений – дитизонатов – основаны методы определения 18 различных ионов тяжелых металлов, выделяемых в так называемую «группу дитизона» (Mn (II), Fe (II), Co, Ni, Cu (I, II), Zn, Ag,Cd, Pb, Hg (I, II), Sn (II) и некоторые другие). Экстрагирование комплексов с помощью органических растворителей (концентрирование) позволяет определять микро-

количества тяжелых металлов. Делительные воронки различных разновидностей и мерные цилиндры для экстракции показаны на рис. 6. Дитизонаты экстрагируют в неполярные растворители – четыреххлористый углерод, хлороформ, бензол, толуол и некоторые другие. Растворимость комплексов тяжелых металлов в них на несколько порядков выше, чем в водной фазе.

Оптимальные условия образования и экстрагирования комплексов дитизона с металлами зависят главным образом от pH водного раствора. В таблице 1 приведены условия проведения экстракции некоторых металлов дитизоном для различных объектов анализа.

1. Условия концентрирования тяжелых металлов дитизоном для последующего спектрофотометрического определения

Определяемые элементы	Объект анализа	Растворитель	pH	Примечания
Co, Cu, Zn	Растения и почвы	$CHCl_3$	8,9.	
Ag, Co, Cu, Ni,Pb	Природные воды	CCl_4	9	
20 элементов	Зола растений	$CHCl_3$	3 – 9	Ионы Fe предварительно удаляют
Cu, Co, Mn, Pb, Ni	Почвы	$CHCl_3$	9	В присутствии лимонной к-ты
Cu	Объекты растительного происхождения	Смесь $CHCl_3$ и керосина	1	

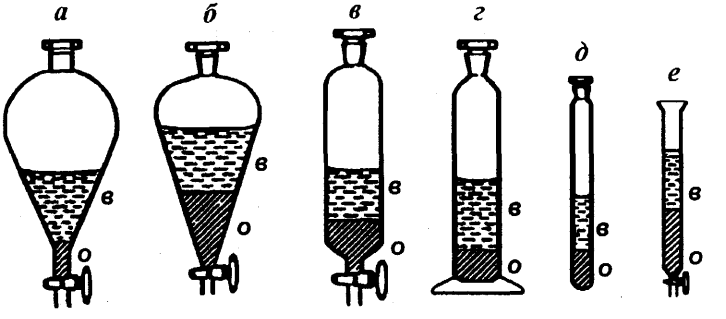


Рис. 6. Посуда для проведения экстракции с помощью органических растворителей:

а *– грушевидная делительная воронка,* ***б*** *– коническая делительная воронка Скибба,* ***в*** *– цилиндрическая делительная воронка,* ***г*** *– смесительный цилиндр,* ***д*** *– смесительная пробирка,* ***е*** *– бюретка для разделения фаз.* ***в*** *– водная фаза,* ***о*** *– органическая фаза*

Использование результатов анализа

Абсорбционная спектрофотометрия наиболее широко применяется в агрохимической практике. Данный метод позволяет количественно определить в почвах, растениях, природных водах основные макро-(N, P, C, Fe, Al, Ca, Mg, Si) и микро- (или биомикроэлементы – Cu, Mn, Co, Zn, B, Mo), тяжелые металлы с выраженным токсическим действием (Pb, Cd, Cr, Hg, As и др.), некоторые показатели биохимического и физиологического состояния растений. Полученная информация необходима при оценке обеспеченности агроэкосистем элементами питания, а также при контроле за получением экологически безопасной сельскохозяйственной продукции.

Атомно-абсорбционная спектрофотометрия

Теория вопроса, значение и принцип метода

Метод атомно-абсорбционной спектрофотометрии (ААС) основан на явлении селективного поглощения (абсорбции) резонансного излучения определяемого элемента атомным паром исследуемого вещества. Принцип метода иллюстрирует рис 7.

Превращение анализируемой пробы из жидкого (или твердого) состояния в атомный пар происходит в атомизаторе. Пар вводится в аналитическую зону атомизатора, просвечиваемую источником излучения с линейчатым спектром изучаемого элемента.

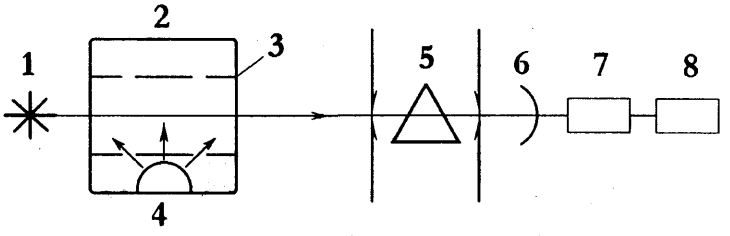


Рис. 7. Принципиальная схема атомно-абсорбционного спектрофотометра: 1 – источник резонансного излучения; 2 – атомизатор; 3 – аналитическая зона; 4 – монохроматор; 5 – фотоумножитель; 6 – усилитель; 7 – регистрирующее устройство; 8 – проба

Закон атомного поглощения аналогичен закону светопоглощения в молекулярной спектрофотометрии и характеризуется экспоненциальным убыванием интенсивности проходящего излучения *I* в зависимости от длины поглощающего слоя атомного пара (длины атомизатора) *l* и концентрации атомов определяемого элемента *c*. В определенном интервале концентрации, зависящем от характера определяемого

элемента и свойств источника резонансного излучения, поглощение излучения атомами подчиняется закону Бугера-Ламберта-Бера:

$$I = I_o\, 10^{-klc} \text{ или } lg\,(I_o / I) = k\, l\, c,$$

где I_o – интенсивность излучения до взаимодействия; I – интенсивность излучения после взаимодействия с атомами (после прохождения через атомизатор); l - длина поглощающего слоя атомного пара; k – атомный коэффициент поглощения, зависящий от длины волны и линии поглощения. Величину $lg\,(I_o/I)$ называют атомным поглощением А, она аналогична оптической плотности в молекулярной спектрофотометрии. Указанная зависимость является практической основой атомно-абсорбционного метода анализа.

Рассмотрим отдельные узлы атомно-абсорбционного спектрофотометра и их роль в формировании аналитического сигнала.

Источник излучения. Наиболее распространенным источником резонансного излучения для ААС является лампа с полым катодом, изготовленным из определяемого металла или его сплава. Спектр лампы содержит линии металла катода и заполняющего лампу газа, обычно неона. Важнейшим фактором, влияющим на точность и чувствительность анализа, является стабильность излучения лампы. Она определяется конструктивными особенностями и индивидуальными свойствами лампы, а также зависит от качества работы источника питания.

Кроме ламп с полым катодом, в практике атомно-абсорбционного анализа применяют высокочастотные безэлектродные лампы, представляющие собой кварцевый или стеклянный баллон (шарик), в который введены соответствующий металл (или его соединение) и инертный газ, поддерживающий разряд в лампе. Высокочастотные лампы наиболее часто используют для определения тех элементов, для которых лампы с полым катодом не отличаются высокой стабильностью и надежностью в работе. Это – мышьяк, сурьма, висмут, селен, теллур.

Атомизатор. В ААС существуют варианты пламенных и электротермических атомизаторов.

В практике анализа наибольшее распространение получили пламенные атомизаторы. В них аналитической зоной служит участок непосредственно над газовой горелкой, через который проходит луч от источника излучения. Обычно раствор распыляют потоком газа и равномерно вводят в пламя в виде аэрозоля, регистрируя установившееся значение абсорбции. Наиболее эффективным способом атомизации является пламя ацетилен – воздух. Эта смесь используется при определении большинства элементов, не образующих термостойких окислов. Для элементов, склонных к образованию термостойких окислов и трудно-диссоциируемых комплексов (алюминий, кремний, титан, молибден и некоторые другие) следует использовать смесь закись азота (в качестве

газа - окислителя) – ацетилен – воздух, которая позволяет получить наиболее высокотемпературное пламя.

Электротермическими атомизаторми (ЭТА) служат печи сопротивления – трубки, тигли, стержни, нити из тугоплавкого материала. К ЭТА относится и вариант гидридной техники, в котором кварцевую трубку нагревают электропечью. Во всех типах ЭТА осуществляют полное импульсное испарение анализируемых микропроб. Пары пробы переносятся через просвечиваемую полость трубки или зону над телом нагрева за счет диффузии, конвекции или с помощью потока инертного газа. Применение ЭТА позволяет повысить чувствительность и предел обнаружения элементов на 1 – 2 порядка по сравнению с пламенными атомизаторами (0,001 – 0,0001 мкг/см^3).

Монохроматор. В ААС монохроматор выделяет резонансную аналитическую линию и в большой степени отделяет ее от молекулярных спектров и сплошного фона, излучаемых атомизаторами. В современных атомно-абсорбционных спектрофотометрах используются монохроматоры, позволяющие выделять спектральную полосу шириной 0,2 – 2 нм в интервале от 190 до 850 нм.

Приемное и регистрирующее устройство. В качестве детектора излучения используют фотоэлектронные умножители – ФЭУ. Фототок с ФЭУ после усиления и логарифмирования поступает на регистрирующее устройство. Современные атомно-абсорбционные спектрофотометры оснащены цифровой индикацией, цифропечатью и ЭВМ, что позволяет получать результаты в единицах концентрации, интегрировать аналитический сигнал за определенный промежуток времени и выдавать его среднее значение, проводить статистическую обработку результатов.

Помехи, влияющие на результаты атомно-абсорбционного анализа. (Методы их учета)

Помехи, возникающие в ходе атомно-абсорбционного анализа почв и растений, можно подразделить на пять групп: 1) спектральные помехи; 2) фоновые помехи (неселективное поглощение); 3) ионизационные помехи; 4) помехи из-за различий физических свойств растворов; 5) химические помехи.

Спектральные помехи обусловлены явлением поглощения излучения не только резонансной линией определяемого элемента, но и атомами других элементов с близкой длиной волны. По сравнению с эмиссионным спектральным методом в атомно-абсорбционном анализе взаимное наложение спектральных линий элементов достаточно мало.

Неселективное поглощение излучения возникает в результате светорассеяния, молекулярного поглощения, а также поглощения пламенем или ЭТА. Светорассеяние и молекулярное поглощение происходят при неполной атомизации пробы и вызываются появлением в

аналитической зоне твердых частиц и молекул основного вещества пробы. Собственное излучение ЭТА имеет спектр черного тела, для пламени характерно излучение со структурой молекулярного спектра.

Для учета спектральных помех и неселективного поглощения применяют так называемый корректор фона. В качестве корректора фона обычно используют оптическую схему со вспомогательным источником сплошного спектра – дейтериевой лампой. В последнее десятилетие широкое распространение получил метод коррекции фона, основанный на эффекте расщепления спектральных линий в магнитном поле (эффект Зеемана).

Ионизационные помехи вызваны снижением количества нейтральных атомов в аналитической зоне атомизатора в результате превращения их в положительно заряженные ионы под действием температуры пламени. В этом случае интенсивность поглощения резонансного излучения существенно уменьшается. Данный вид помех имеет место при определении элементов с низкими потенциалами ионизации (щелочные и щелочноземельные элементы). Контролировать ионизацию в пламени можно путем добавления к растворам проб и стандартов избытка легкоионизируемых элементов. Обычно в качестве ионизационного буфера используют растворы солей цезия, лития и калия.

Помехи, возникающие из-за различий физических свойств растворов (вязкости, поверхностного натяжения и др.), можно контролировать, максимально сближая состав (содержание солей, концентрация растворителей) растворов проб и стандартов. При невозможности нивелировать различия в составах следует использовать метод добавок.

Химические помехи обусловлены присутствием труднодиссоциируемых соединений определяемого элемента в аналитической зоне атомизации. В ряде случаев такие соединения могут образовываться непосредственно в пламени при распылении в него анализируемого раствора. В результате снижается количество свободных атомов, способных к поглощению резонансного излучения. Типичным проявлением химических помех является снижение абсорбции при определении в почве щелочноземельных элементов в присутствии фосфора, кремния, алюминия. Другим примером помех такого рода служит уменьшение сигнала поглощения при определении алюминия, молибдена, ванадия и др. в результате образования устойчивых окислов.

Устранить влияние химических помех можно двумя путями:

1) использовать высокотемпературное пламя, энергия которого достаточно высока и способна разрушить многие устойчивые соединения и атомизировать пробу;

2) добавлять к растворам проб и стандартов маскирующие вещества, которые реагируют с мешающими элементами и снимают возможные химические помехи.

Примером служит добавление к растворам (при анализе почв, растений, вод) лантана, который при определении кальция, магния, стронция и бария устраняет депрессирующее влияние фосфора, кремния и алюминия. Позволяет снизить химические помехи и полная идентификация по составу растворов проб и стандартов.

Атомно-абсорбционный метод отличается от традиционных аналитических методов простотой выполнения анализа и высокой производительностью. Он обеспечивает предел обнаружения многих элементов 0,1 – 0,01 мкг/см^3 (с атомизацией в пламени) и ниже, что в большинстве случаев оказывается достаточным для применения метода в почвенно-агрохимических исследованиях.

Техника выполнения измерений

Приготовление стандартных растворов. В качестве основных стандартных растворов используют государственные стандартные образцы (ГСО) с гарантированной концентрацией элемента или комплекса элементов – 1000 мкг/см^3.

Возможно приготовление стандартных растворов из окислов или солей металлов с постоянной стехиометрией.

Цинк. Навеску 1,000 г металлического цинка помещают в стакан вместимостью 100 см^3 и добавляют 20 см^3 раствора азотной кислоты (1 : 1). Растворившийся цинк количественно переносят в мерную колбу объемом 1000 см^3 и доводят до метки 1%-ым раствором азотной кислоты. Полученный раствор имеет концентрацию 1000 мкг/см^3 цинка.

Марганец. Навеску 4,388 г сернокислого марганца ($MnSO_4 \cdot 5H_2O$) помещают в стакан вместимостью 100 см^3, растворяют в бидистиллированной воде и затем количественно переносят в мерную колбу объемом 1000 см^3. В колбу приливают приблизительно 500 см^3 бидистиллированной воды, добавляют 82 см^3 концентрированной соляной кислоты и доводят до метки бидистиллированной водой. Полученный раствор имеет концентрацию 1000 мкг/см^3 марганца.

Медь. Навеску 3,798 г нитрата меди ($Cu(NO_3)_2 \cdot 3H_2O$) помещают в стакан вместимостью 100 см^3, растворяют в бидистиллированной воде и количественно переносят в мерную колбу объемом 1000 см^3. Добавляют 30 см^3 раствора азотной кислоты (1:1) и доводят до метки 1%-ым раствором азотной кислоты. Полученный раствор имеет концентрацию меди – 1000 мкг/см^3.

Свинец. Навеску 1,000 г металлического свинца помещают в стакан вместимостью 100 см^3, растворяют в 30 см^3 азотной кислоты (1:1) и количественно переносят в мерную колбу объемом 1000 см^3. Доводят до метки 1%-ым раствором азотной кислоты. Полученный раствор имеет концентрацию 1000 мкг/см^3 свинца.

Кадмий. Навеску 1,142 г оксида кадмия (CdO) помещают в стакан вместимостью 100 см^3, растворяют в 20 см^3 азотной кислоты (1:1) и

количественно переносят в мерную колбу объемом 1000 $см^3$. Доводят объем до метки 1%-ым раствором азотной кислоты. Полученный раствор имеет концентрацию 1000 $мкг/см^3$ кадмия.

Никель. Навеску 4,953 г нитрата никеля ($Ni(NO_3)_2$) помещают в стакан вместимостью 100 $см^3$, растворяют в бидистиллированной воде и количественно переносят в мерную колбу объемом 1000 $см^3$, доводят объем до метки 1%-ым раствором азотной кислоты.

Кобальт. Навеску 4,769 сернокислого кобальта ($CoSO_4 \cdot 7H_2O$) помещают в стакан вместимостью 100 $см^3$, растворяют в бидистиллированной воде и количественно переносят в мерную колбу объемом 1000 $см^3$. Добавляют 50 $см^3$ азотной кислоты (1:1) и доводят до метки бидистиллированной водой. Полученный раствор имеет концентрацию 1000 $мкг/см^3$ кобальта.

Железо. Навеску 8,635 г железоаммонийных квасцов ($FeNH_4(SO_4)_2 \times 12H_2O$) помещают в стакан вместимостью 100 $см^3$, растворяют в 50 $см^3$ 8%-го раствора серной кислоты, количественно переносят в мерную колбу объемом 1000 $см^3$ и доводят до метки бидистиллированной водой. Полученный раствор имеет концентрацию 1000 $мкг/см^3$ железа.

Хром. Навеску 3,734 г хромата калия (K_2CrO_4) помещают в стакан вместимостью 100 $см^3$, растворяют в бидистиллированной воде, количественно переносят в мерную колбу объемом 1000 $см^3$ и доводят до метки 1%-ым раствором соляной кислоты. Полученный раствор имеет концентрацию 1000 $мкг/см^3$.

Основные стандартные растворы хранят в герметичной посуде из стекла или полиэтилена высокого давления на рассеянном свету. Гарантированный срок хранения основных растворов – 1 год.

Промежуточные стандартные растворы элементов готовят последовательным разбавлением основных растворов в 10 и 100 раз 1%-ой азотной кислотой. Эти растворы хранят в герметичной посуде не более 1 года.

Стандартные растворы сравнения готовят из промежуточных растворов путем разбавления тем же раствором кислоты, проб. Содержание тяжелых металлов не должно выходить за пределы следующих диапазонов рабочих концентраций: для железа, цинка и марганца – 0,1 – 10; для меди – 0,05 – 5; для хрома, никеля и свинца – 0,1 – 5; для кадмия – 0,02 – 1 $мкг/см^3$. В рабочих диапазонах необходимо иметь по 3 – 4 стандартных раствора сравнения. Стандартные растворы сравнения могут быть как смешанными, так и моноэлементными. Растворы с концентрацией металла от 1 до 10 $мкг/см^3$ хранят в герметичной посуде не более 1 месяца, растворы с концентрацией менее 1 $мкг/см^3$ должны быть свежеприготовленными.

В качестве нулевого стандарта (бланк) используют 1%-ый раствор азотной или соляной кислоты, т.е. тот раствор, который применяли для растворения проб и разбавления растворов.

Аппаратура, реактивы, материалы

1. Государственные стандартные образцы (смешанные или моноэлементные) с концентрацией каждого элемента 1000 мкг/см^3 или:
   цинк гранулированный по ГОСТу 4165;
   марганец сернокислый пятиводный по ГОСТу 435-77;
   медь азотнокислая трехводная по ГОСТу;
   свинец металлический по ТУ 6-09-3523-74;
   кадмий оксид по ГОСТу 11120-75;
   никель азотнокислый шестиводный по ГОСТу 4055-70;
   кобальт сернокислый по ГОСТу 4462-58;
   калий хромовокислый по ГОСТу 4220;
2. Колбы мерные объемом 1000 см^3 по ГОСТу 1770;
3. Стаканы объемом 100 см^3 по ГОСТу 25336;
4. Кислота азотная по ГОСТу 11125 «ос. ч.» раствор в бидистиллированной воде 1:1 по объему.
5. Кислота азотная по ГОСТу 11125 «ос. ч.» раствор в бидистиллированной воде с массовой долей 1%;
6. Кислота соляная по ГОСТу 14261 «ос. ч.» раствор в бидистиллированной воде с массовой долей 1%;
7. Кислота серная по ГОСТу 4204 «ос. ч.» или «х. ч.» раствор в бидистиллированной воде с массовой долей 8%;

Проведение измерений. Подготовку атомно-абсорбционного спектрофотометра к работе, его включение и выведение на рабочий режим осуществляют в соответствии с инструкциями по эксплуатации. Особое внимание следует уделить выполнению таких моментов, как:

- установление требуемой силы тока (на каждой лампе с полым катодом указаны оптимальная сила тока и максимально допустимая) и прогрев источника резонансного излучения не менее 30 мин.;
- точная настройка монохроматора на резонансную линию по максимуму излучения при минимальной ширине щели, но проведение измерений при рекомендуемой ширине щели; используют наиболее чувствительные линии поглощения элементов со следующими длинами волн: цинк – 213,9 нм, железо – 248,3 нм, кадмий – 228,8 нм, никель – 232,0 нм, свинец – 283,3 нм, кобальт – 240,7 нм, марганец – 278 нм, медь – 324,8 нм, хром – 357,9 нм;
- юстировка источников резонансного и (если корректором фона служит дейтериевая лампа и в спектрофотометре отсутствует режим автокомпенсации) нерезонансного излучения;

♦ юстировка высоты горелки и ее положения относительно луча источника резонансного излучения;

♦ если в состав инструкций по эксплуатации прибора не включено «Руководство для оператора» с оптимальными аналитическими параметрами определения каждого элемента, то юстировку высоты горелки и соотношение ацетилен/воздух необходимо проводить во время прогрева горелки по максимуму абсорбции одного из стандартных растворов сравнения;

♦ прогрев включенной горелки перед началом измерений с одновременной ее промывкой бидистиллированной водой в течение 5 мин.;

Техника измерений. Сначала распыляют в пламя нулевой стандарт (при экстракционном концентрировании – его экстракт) и устанавливают показания прибора на нуль. Затем в порядке возрастания концентрации измеряют абсорбцию стандартных растворов сравнения (или их экстрактов). В конце градуировки отмечают положение нулевой линии при распылении нулевого стандарта.

После окончания градуировки прибора в пламя распыляют исследуемые растворы и измеряют величину абсорбции (практически во всех моделях современных атомно-абсорбционных спектрофотометров предусмотрен режим автопостроения градуировочного графика, что позволяет получать результаты измерений как в величине абсорбции, так и в единицах концентрации). Измерение каждого раствора проводится не менее двух раз. Для проверки стабильности работы прибора через каждые 10 – 15 измерений исследуемых проб в пламя вводят нулевой стандарт и один из стандартных растворов сравнения. Если обнаружено отклонение от первоначально полученных значений величины абсорбции (или концентрации), то градуировку прибора проводят заново и повторно измеряют последние 10 – 15 проб.

При прямом определении в исследуемых растворах кадмия, свинца, никеля, кобальта и хрома необходимо обязательно проводить коррекцию фонового поглощения.

Обработка результатов. При наличии в приборе автоматизированной системы расчета концентрации по величине абсорбции результаты можно получить в единицах концентрации. При ручной обработке данных строят график зависимости величины абсорбции от концентрации. По градуировочному графику находят концентрацию определяемого металла в исследуемом растворе (и в холостой пробе) и рассчитывают его содержание в пробе по формуле

$$X = \frac{(C_x - C_o) \cdot V}{m},$$

где C_x – концентрация элемента в исследуемом растворе, мкг/см^3; C_o – концентрация элемента в холостой пробе, мкг/см^3; V – объем

исследуемого раствора; m – навеска пробы, г; X – массовая доля элемента в пробе, млн$^{-1}$ (мг/кг).

За окончательный результат принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений.

Аппаратура, реактивы, материалы

1. Атомно-абсорбционный спектрофотометр с пламенным вариантом атомизатора и укомплектованный источниками резонансного излучения железа, марганца, цинка, меди, кадмия, свинца, кобальта, никеля и хрома (лампами с полым катодом, безэлектродными разрядными лампами).
2. Компрессор воздушный, соответствующий требованиям технической инструкции для атомно-абсорбционного спектрофотометра, или сжатый воздух в баллонах.
3. Ацетилен растворенный и газообразный технический по ГОСТу 2457 в баллонах.

Спектроскопия в ближней ИК-области

Теория вопроса, значение и принцип метода

Происхождение ИК-спектров обусловлено колебательными движениями атомов в молекулах. При поглощении молекулой фотона с энергией меньше 80 кДж/моль электронного перехода не происходит, энергии хватает лишь на изменение колебаний атомов, вызывающих переход молекулы из одного колебательного состояния в другое. Различают несколько типов колебаний атомов в многоатомной молекуле: валентные (симметричные и антисимметричные) и деформационные. При валентных колебаниях изменяется длина связей (расстояние) между атомами, при деформационных – угол между связями без изменения их длины.

Из всех колебательных переходов наиболее вероятным является переход на ближайший колебательный подуровень. Ему соответствует спектральная линия, называемая основной. Менее вероятным переходам на более высокие колебательные подуровни отвечают спектральные линии, называемые обертонами. Их частоты кратны частоте основной линии, а интенсивность существенно ниже.

Анализ веществ в ближней (или обертонной) ИК области проводится как раз с использованием обертонов и составных частот (комбинации основных частот – суммы или разности).

Обычно для изображения ИК-спектров используют частоту (в см$^{-1}$), реже – длину волны (в нм). Ближняя ИК-область охватывает диапазон частот от 4000 до 10000 см$^{-1}$ (740 – 2500 нм). Интенсивность поглощения ИК-излучения выражают величиной пропускания Т в процентах.

ИК-спектры обычно изображают в виде графика, откладывая по оси ординат пропускание, а по оси абсцисс – частоту или длину волны (рис. 8).

Количественная характеристика спектров поглощения дается, как и для видимой области, на основе закона Бугера-Бера.

Большой набор возможных колебаний обусловливает соответственно большое число полос в ИК-спектрах даже относительно простых молекул. ИК-спектры множества соединений зарегистрированы и собраны в специальных атласах, которыми пользуются при идентификации соединений и анализе веществ.

ИК-спектроскопия поглощения в ближней и средней областях спектра применяется при изучении органических и минеральных компонентов почвы, выявлении в них важнейших атомных групп и типов связей, определении структуры молекул.

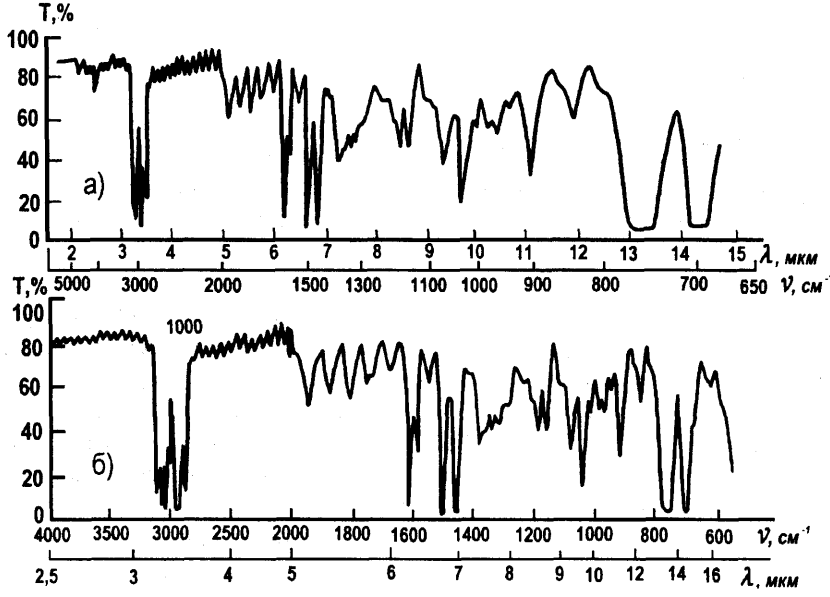


Рис. 8. ИК-спектр полистирола:
а) – в шкале длин волн, б) – в шкале частот

ИК-спектроскопия позволяет получать и исследовать не только спектры поглощения, но и спектры отражения в инфракрасной области.

Принцип метода отражательной ИК-спектроскопии основывается на существовании зависимости между количеством отдельных компонентов в сложных по составу пробах и интенсивностью диффузного отражения света в ближней ИК-области. Однако связь коэффициента отражения $R\lambda$ с содержанием определяемого компонента не линейная. Поэтому вводят специальную функцию $f(R\lambda)$, которая должна быть линейной от концентрации компонента C: $f(R\lambda) = a \cdot C$.

Существует несколько разновидностей таких функций, которые в ряде случаев являются эмпирическими. Наиболее широко используется функция Кубелки-Мунка:

$$f(R\lambda) = K/S = (1-R\lambda) / 2R\lambda,$$

где K и S – коэффициенты поглощения и рассеяния, соответственно.

Часто применяется соотношение, связывающее коэффициенты отражения исследуемого образца и «белого» (не поглощающего) стандарта:

$$\log \{R_o / R\lambda\} = \log \{1/R\lambda\} + \log R_o \approx aC/S,$$

где R_o – коэффициент отражения от стандарта; a и S – коэффициенты, зависящие от поглощения и рассеяния.

Отражательная ИК-спектроскопия позволяет определять в различных объектах такие показатели, как влажность; в растениях – жир, клетчатку, золу, белок, крахмал.

Аппаратура

Рассмотрим устройство и отдельные узлы ИК-спектрометра.

Источники излучения. В ближней ИК-области используют лампу накаливания. Для других диапазонов ИК-частот применяют штифты Нернста, глобары и другие излучатели, разогреваемые при прохождении тока до 1100 – 1300° С.

Монохроматоры. В ИК-спектрометрах системы монохроматизации потока излучения могут быть двух типов – призменные и дифракционные. В первых в качестве диспергирующего элемента используются призмы, изготовленные из прозрачных в ИК-области материалов. Для разных диапазонов частот это могут быть призмы из специального стекла, стекловидного кварца, LiF, CaF_2, NaCl, Ge, KBr, CsBr, CsI. В дифракционных ИК-спектрометрах в качестве диспергирующего элемента используются дифракционные решетки.

Кюветы. В отражательной ИК-спектроскопии применяют специальные держатели, в которые помещается тонко растертая однородная проба.

В ИК-спектроскопии поглощения для работы с жидкими пробами используют пластины из хлорида натрия или хлорида серебра, закрепленные в специальном кожухе. Твердые пробы суспендируют в вазелине, нуйоле и других маслах или смешивают с порошком бромида калия и прессуют в таблетки. Суспензию вводят в промежуток между пластинами из хлорида натрия, а таблетку помещают прямо в кюветное отделение.

Приемное и регистрирующее устройство. Детектирование сигнала в ИК-области основано на выделении теплоты при возвращении молекул из возбужденного колебательного состояния в основное. Для этого тепловую энергию преобразуют в электрический сигнал, чаще с помощью термистора, болометра или термопары. На многих современных приборах после детектирования поглощенного или отраженного излучения сигнал

датчиков через аналого-цифровой преобразователь поступает в микро-ЭВМ. Результаты анализа выдаются в обработанном виде.

Ниже рассмотрим устройство и порядок работы на спектрометре для ближней ИК-области.

СПЕКТРОМЕТР «INFRAPID-61». Оптическая схема и внешний вид прибора «Infrapid-61» (Венгрия) показаны на рис. 9.

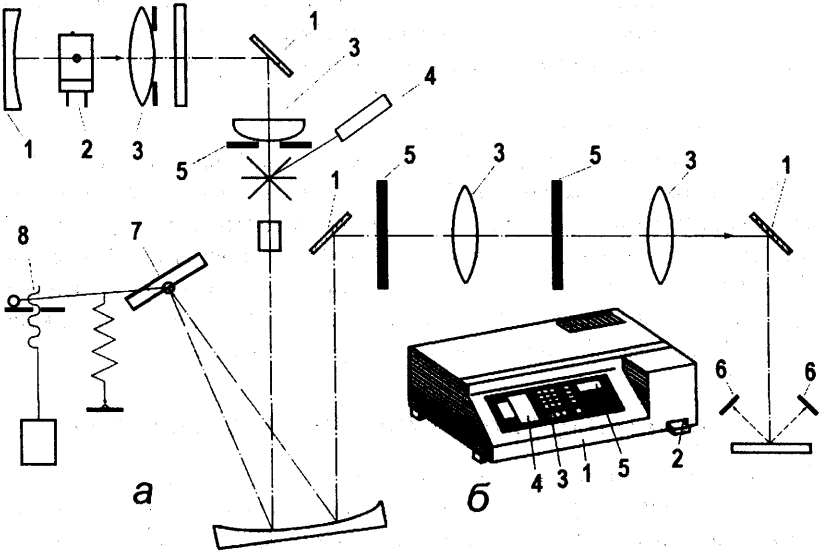


Рис. 9. Прибор ИНФРАПИД-61:

а – оптическая схема: *1 – зеркало, 2 – лампа, 3 – линза, 4 – вращающийся диск с синхронным двигателем, 5 – диафрагма, 6 – детектор, 7 – оптическая решетка, 8 – механизм для выработки синусоидальных колебаний,*

б – внешний вид: *1 – корпус прибора, 2 – камера для размещения кюветы с образцами, 3 – клавиатура микроЭВМ, 4 – цифропечатающее устройство, 5 – дисплей*

Прибор регистрирует спектры в режиме диффузного отражения в диапазоне частот 4100 – 7700 $см^{-1}$.

Порядок работы. Включение прибора осуществляется в соответствии с инструкцией по эксплуатации.

При включении прибора (кнопка на задней панели) на табло появляется надпись «ИНФРА61». Нажать клавишу «MODE» (прибор проведет самодиагностику) и на табло высветится сообщение «ДТ». Ввести текущую дату и нажать клавишу «ENTER». На табло появится надпись «ВВОД», нажать клавишу «MODE» – высветится надпись «АНАЛИЗ». После этого прибор готов к съемке спектров.

В режиме «АНАЛИЗ» следует нажать клавишу «ENTER». На табло появится надпись «СТД.КАЛ». После этого необходимо установить держатель со стандартом в положение, при котором производится запись спектра. После записи спектра стандарта на табло появится надпись «СПЕКТР». Установить держатель с образцом в положение сканирования спектра образца. После завершения записи спектра на табло появится надпись «ДИСПЛЕЙ». Прибор готов к передаче данных на ЭВМ.

Считывание спектра ЭВМ осуществляется с помощью специального программного обеспечения. Спектр образца может быть просмотрен на дисплее и сохранен в файле для последующей обработки.

Использование результатов анализа

Контроль качества сельскохозяйственной продукции, получение информации о ее пищевой ценности являются важными элементами как в производственной практике, так и в исследовательской работе. Применение метода ИК-спектроскопии позволяет повысить экспрессность определения таких показателей, как белок, жир, влажность, клетчатка, крахмал, зола в сельскохозяйственной растительной продукции и кормах, что особенно важно при выполнении массовых анализов.

ПОЛЯРИМЕТРИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

Теория вопроса, значение и принцип метода

Основой поляриметрического анализа является свойство оптически активных веществ изменять угол вращения плоскости поляризации света. Это свойство обусловлено наличием в молекуле асимметричного атома углерода или других функциональных групп, обусловливающих пространственную асимметрию молекулы. Большинство углеводов, а также антибиотики, алкалоиды, эфирные масла и некоторые другие соединения оптически активны.

Электромагнитное излучение (свет) представляет собой бесконечный поток фотонов с хаотической ориентацией их плоскости колебания. Такой свет называют неполяризованным. При пропускании его через изотропные (оптически неактивные) вещества разнонаправленность колебаний волн остается неизменной. В то же время существуют некоторые вещества (оптически анизотропные), которые оказывают влияние на ориентацию плоскости колебания проходящего через них света.

Поляризованный свет можно получить при пропускании естественного света через исландский шпат, поляроидные пленки, турмалин и другие анизотропные тела.

При прохождении светового излучения через анизотропные тела (или поляризаторы) оно разделяется на две поляризованные, но взаимно

перпендикулярные составляющие. Разработан целый ряд устройств, позволяющих получить поляризованный свет в одной плоскости (призма Николя и др.). Такие устройства называют поляризаторами.

На количественных зависимостях между концентрацией оптически активных веществ в растворах и направлением (или углом) вращения поляризованного света основан поляриметрический метод анализа.

Количественный анализ оптически активных веществ осуществляют при помощи поляриметров.

Устройство поляриметра схематично изображено на рис. 10.

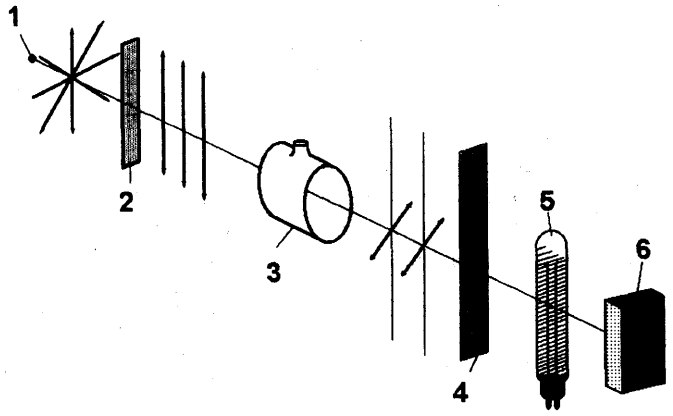


Рис. 10. Принципиальная схема поляриметра: 1 – источник света, 2 – поляризатор. 3 – кювета с исследуемым раствором. 4 – анализатор, 5 – фотоумножитель, 6 – регистрирующее устройство

Свет от источника излучения (1) проходит через поляризатор (обычно это призма Николя) (2), после чего он становится линейно поляризованным. Если на пути такого света поставить второй поляризатор (4) (который в данном случае принято называть анализатором), повернутый относительно первого на 90°, то свет через анализатор не пройдет. Поместив между поляризатором и анализатором оптически активное вещество (3), например раствор сахара, можно зарегистрировать прохождение света через анализатор. Для того чтобы этот луч света погасить, анализатор поворачивают на дополнительный угол – угол вращения плоскости поляризации оптически активным веществом. Этот угол возрастает с увеличением оптического пути луча в веществе и концентрации оптически активного компонента.

Величину оптической активности обычно измеряют в градусах на дециметр пути в активной среде и обозначают θ. Отношение оптической

активности θ к концентрации оптически активного компонента называют удельной вращающей способностью: $[\theta] = \theta\,100 / C$,
где C - концентрация, выраженная в граммах на 100 см^3 раствора. Типичные значения величины удельных углов вращения для растворов некоторых сахаров приведены в табл. 2

2. Величины удельных углов вращения $[\alpha]20°$ растворов некоторых сахаров

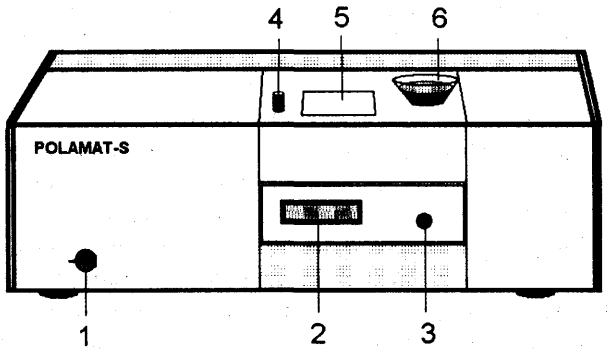
Разновидность сахара	Химическая формула	Удельное вращение [α] 20°
Тростниковый сахар	$C_{12}H_{22}O_{11}$	+66,5
Мальтоза	$C_{12}H_{22}O_{11}$	+135,5
Глюкоза	$C_6H_{12}O_6$	+52,8
Фруктоза	$C_6H_{12}O_6$	-93,3 ... -97,2

В агрохимической практике применяют как различные поляриметры простых типов (круговые типа СМ-2, сахариметр С4-3, поляриметр-глюкозиметр ПГ и др.), так и автоматические поляриметры универсального назначения (типа «POLAMAT» и др.).

Ниже рассмотрим устройство и порядок работы на поляриметре «POLAMAT».

ПОЛЯРИМЕТР «POLAMAT». Внешний вид прибора показан на рис. 11.

Рис. 11. Внешний вид прибора-поляриметра POLAMAT-S:



1 – тумблер включения прибора. 2 – шкала показаний, 3 – кнопка для установления нуля. 4 – трубка для подъема жидкости. 5 – крышка кюветного отделения. 6 – воронка для заполнения кюветы

Порядок работы. Включение прибора и выполнение на нем измерений проводят в соответствии с инструкцией по эксплуатации.

1. Прибор включают, устанавливают тумблер (1) в положение «I» и прогревают 5 – 10 мин.

2. Кювету заполняют дистиллированной водой и устанавливают нулевую точку кнопкой (3). Затем кювету заполняют исследуемым раствором и индикацию измеряемой величины производят путем проекции делительного круга на проекционное окошко (2), находящееся под кюветным отделением. Все измерения проводят при температуре 20°С и толщине слоя 2 дм при длине волны 546,1 нм.

Концентрацию вещества вычисляют по формуле: $C = 100\alpha / l\,[\alpha]Д$,

где α – угол вращения исследуемого вещества; l – длина трубки, дм;

$[\alpha]Д$ – удельный угол вращения вещества.

Использование результатов анализа. Поляриметрический анализ широко применяют для определения качества сахарной свеклы как сырья сахарной промышленности. Метод экономичен, отличается простотой выполнения, быстротой и высокой точностью. Поляриметрия имеет большое значение и для теоретических исследований. По величине и направлению вращения плоскости поляризации света можно получить представление о химическом строении и пространственной конфигурации органических соединений, а также о механизме реакций, продукты которых имеют асимметричный атом углерода.

ИОНОМЕТРИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

Теория вопроса, значение и принцип метода

Область потенциометрии, в которой используют ионоселективные электроды, называют ионометрией.

В основе ионометрических методов анализа лежит зависимость потенциала электрода от концентрации ионов в растворе, описываемая уравнением Нернста:

$$E = E_o \pm \frac{R \cdot T}{n \cdot F} \cdot \ln a_i$$

где E_o – стандартный электродный потенциал (т.е. потенциал электрода в среде с активностью иона $a = 1$), R – универсальная газовая постоянная; F – постоянная Фарадея; a_i - активность иона, T – абсолютная температура.

Электрод, потенциал которого зависит от активности определенных ионов, называют индикаторным. Однако потенциал отдельно взятого индикаторного электрода нельзя измерить, его всегда определяют по отношению к электроду сравнения. Оба электрода вместе представляют собой гальваническую пару с определенной, зависящей от концентрации раствора и типа электродов ЭДС, которую можно легко измерить.

Электроды сравнения. В качестве электрода сравнения чаще всего используют хлорсеребряный электрод. Устройство хлорсеребряного электрода показано на рис. 12.

Электрод представляет собой серебряную проволоку (6) (на которую электролитическим путем нанесен слой хлорида серебра), погруженную в насыщенный раствор хлорида калия (4). Раствор KCl солевым мостиком (7) связан с анализируемым раствором. Асбестовая нить (2) служит для затруднения диффузии внешнего раствора внутрь электрода.

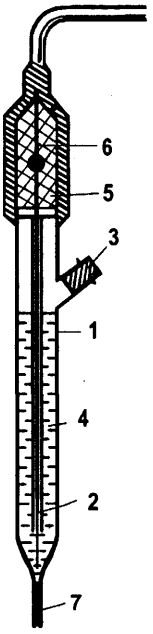


Рис. 12. Устройство хлорсеребряного электрода ЭВЛ-1М3:
1 – корпус, 2 – асбестовая нить,
3 – резиновая пробка и отверстие для залива раствора KCl,
4 – раствор KCl,
5 – слой AgCl,
6 – серебряная проволока,
7 – солевой мостик

Иногда кроме хлорсеребряного в качестве электрода сравнения применяют каломельный.

Индикаторные электроды. Индикаторные электроды для потенциометрических измерений бывают двух основных типов – металлические и мембранные (ионоселективные).

Для металлических электродов характерна электронная проводимость, для мембранных – ионная. Металлические электроды используют для определения окислительно-восстановительного потенциала раствора (неактивные индикаторные электроды из благородных металлов), а также для измерения концентрации отдельных ионов (активные электроды). Более чувствительные ионселективные электроды в зависимости от типа мембраны бывают твердофазными, жидкостными и пластифицированными. Одним из наиболее широко используемых ионоселективных твердофазных электродов является классический стеклянный электрод для измерения pH.

Зависимость потенциала электрода от активности потенциалопределяющего иона можно выразить модификацией уравнения Нернста:

$$E = E_o \pm S \lg a,$$

где E – измеряемый потенциал; E_o – константа; S – тангенс угла наклона электродной функции; a – активность определяемого иона.

Для разбавленных растворов сильных электролитов или для растворов с постоянной ионной силой (достигается введением и в стандартные и в исследуемые растворы избытка индифферентного электролита) с достаточной степенью точности активность *a* может быть заменена концентрацией *[C]*: $E = E_o \pm S \lg [C]$.

Для однозарядного иона коэффициент наклона электродной функции равен 59,16 мВ на единицу измерения активности или концентрации определяемого иона в логарифмическом масштабе.

Для измерения потенциалов электродов используют высокоомные потенциометры специальной конструкции – так называемые pH-метры или иономеры. На рис. 13 показана схема передней панели универсального иономера ЭВ-74. Шкала прибора проградуирована не только в мВ, но и в единицах pH или pX (pX – отрицательный логарифм концентрации ионов). Все измерения проводятся в соответствии с инструкцией по эксплуатации прибора. С помощью иономеров можно определять не только концентрацию катионов (как на pH-метрах), но и анионов.

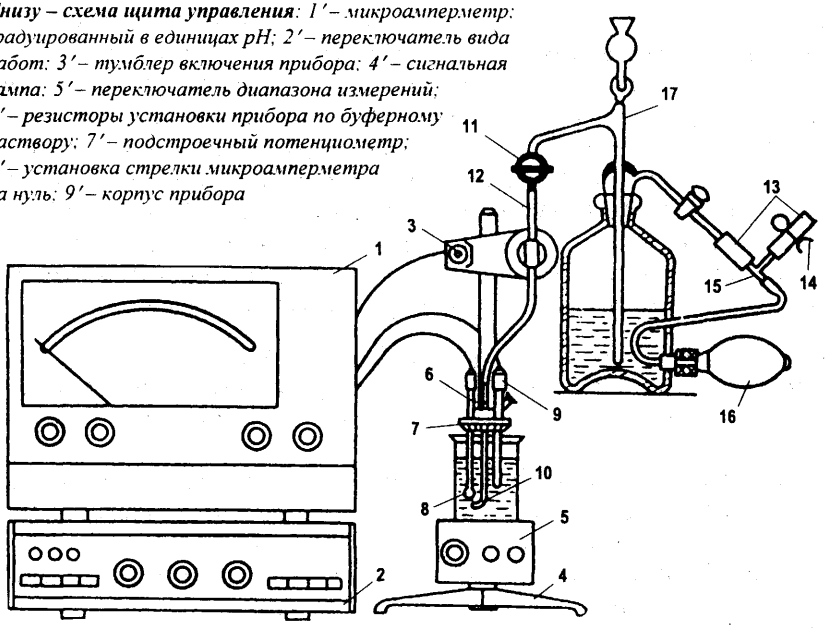
ИОНОМЕР ЭВ-74 (рис. 13). Порядок работы (калибровка NO_3).

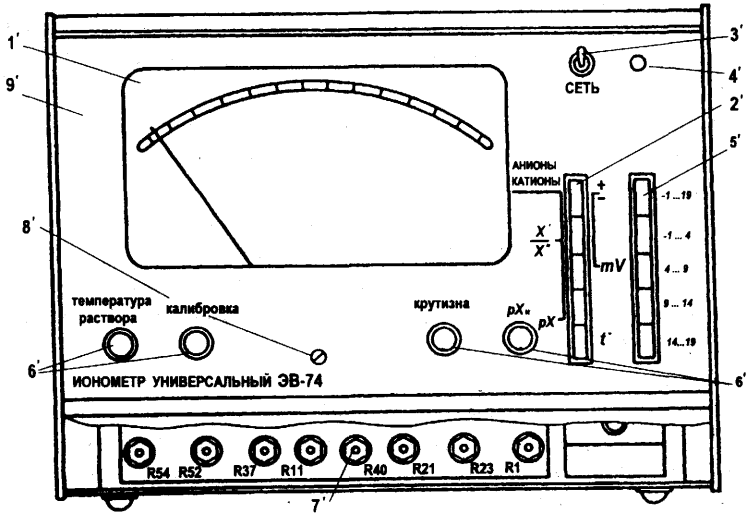
1. Прибор с подготовленными к работе и присоединенными в соответствии с инструкцией нитратным и хлорсеребряным электродами включают тумблером (3).
2. После прогревания (40 – 50 мин.) если необходимо, корректируют нуль гальванометра (8) с помощью отвертки. При этом переключатель термокомпенсации должен находиться в положении «Ручн.».
3. Ручки «Температура раствора» и «pHи» приводят в крайнее левое положение. Нажимают клавишу «Анионы/ Катионы».
4. В стаканчик, заполненный стандартным раствором с концентрацией 10^{-4} M KNO_3 (pNO_3=4), опускают электроды и при замере pNO_3 нажимают клавишу «pX», при размыкании цепи – клавишу «t°». Ручкой «Калибровка» устанавливают стрелку прибора на значение 4 (шкала диапазона измерений от 1 до 4).
5. Ополаскивают электроды дистиллированной водой, сушат фильтровальной бумагой и помещают в стандартный раствор с концентрацией 10^{-2} M KNO_3 (pNO_3 = 2).
6. Ручкой «Крутизна» устанавливают стрелку прибора на значение 2 (шкала от 1 до 4). Если диапазона регулировки ручкой «Крутизна» не хватает, то используют ручку «Температура раствора». Затем проверяют и, если нужно, продолжают настройку по указанным растворам с концентрацией 10^{-4} M и 10^{-2} M KNO_3.
7. Окончательную калибровку прибора проверяют по раствору с концентрацией 10^{-3} M KNO_3 (pNO_3 = 3). Закончив калибровку, электроды погружают в исследуемый раствор и измеряют значение pNO_3. После каждого измерения электроды тщательно ополаскивают дистиллированной водой и сушат фильтровальной бумагой.

Рис. 13. Устройство универсального иономера ЭВ-74:

Сверху – общий вид установки потенциометрического титрования:
1 – pH-метр-милливольтметр; 2 – блок автоматического титрования; 3 – электромагнитный клапан; 4 – штатив; 5 – мешалка; 6 – втулка резиновая; 7 – держатель электродов; 8 – измерительный электрод; 9 – вспомогательный электрод; 10 – дозирующая трубка; 11 – одноходовый кран; 12, 13 – резиновые трубки Ø 2 и 4.5 мм; 14 – зажим; 15 – тройник; 16 – груша; 17 – микробюретка.

***Снизу – схема щита управления**: 1′ – микроамперметр, градуированный в единицах pH; 2′ – переключатель вида работ; 3′ – тумблер включения прибора; 4′ – сигнальная лампа; 5′ – переключатель диапазона измерений; 6′ – резисторы установки прибора по буферному раствору; 7′ – подстроечный потенциометр; 8′ – установка стрелки микроамперметра на нуль; 9′ – корпус прибора*





В настоящее время широкое распространение получили легкие портативные приборы, сочетающие в себе функции иономеров, кондуктомеров и термометров. Приборы нового поколения имеют целый ряд преимуществ по сравнению с описанным выше иономером ЭВ-74. Наличие измерительного блока и комбинированного питания (от сети, батарей или аккумуляторов) в современных приборах позволяет эксплуатировать их в полевых условиях. Как правило, такие приборы имеют возможность работы с любыми стандартными ионселективными электродами, причем можно одновременно использовать несколько ионселективных электродов. Наличие микропроцессорного управления и электронной памяти значительно облегчает работу и позволяет вводить до шести точек градуировок по каждому ионометрическому и кондуктометрическому каналам. Например, иономер-кондуктомер «АНИОН-410» фирмы ИНФРАСПАК-АНАЛИТ, представленный на рис. 14, обладает, кроме того, возможностью автоматически вычислять и представлять на индикаторе молярную и массовую концентрации ионов, а также степень минерализации в пересчете на хлористый натрий (или любую другую соль). А при подключении такого прибора к компьютеру пользователи имеют возможность проводить параллельно и статисти-ческую обработку получаемых данных. Подробно принципы работы на современных приборах описаны в прилагаемых к ним инструкциях.

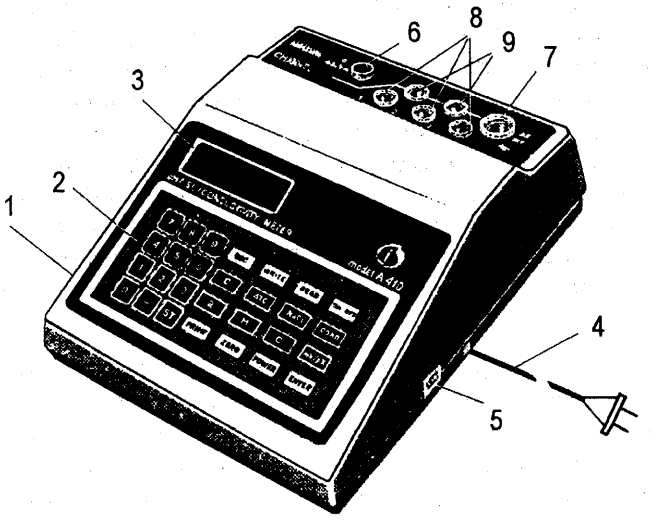


Рис. 14. Устройство иономера-кондуктомера «АНИОН-410»:
1 – корпус прибора; 2 – клавиатура; 3 – индикатор; 4 – кабель для подключения прибора к электрической сети (220 В, 50 Гц); 5 – гнездо для кабеля, подсоединяющего прибор к компьютеру; 6 – гнездо для комбинированного выносного датчика; 7, 8, 9 – гнезда для подключения электродов

Подготовка электродов к работе и хранение

Стеклянный электрод для измерения активности водородных ионов перед использованием (новый) погружают на сутки в 0,1 М раствор HCl и затем промывают дистиллированной водой. Проверяют линейность показаний электрода по измерению pH нескольких буферных растворов. Хранить электрод следует в 0,001 М растворе HCl. Стеклянный электрод для определения активности Na перед применением на сутки погружают в раствор NaCl, промывают дистиллированной водой и хранят в 0,01 М растворе NaCl.

Калиевый мембранный электрод. Перед началом работы внутреннюю полость электрода промывают дистиллированной водой и дважды 0,1 М раствором KCl. Затем заливают 1,5 – 2,5 $см^3$ 0,1 М раствора KCl и погружают в него внутренний электрод сравнения. Электрод хранят в 0,1 М растворе KCl. Проверку показаний осуществляют с помощью стандартных растворов KCl.

Нитратный электрод перед работой промывают дистиллированной водой и раствором KNO_3 + KCl в соотношении концентраций 0,1 и 0,005 М, соответственно. Затем заливают в электрод указанный раствор и выдерживают в течение суток в 0,1 М растворе HNO_3. Хранят в 0,1 М растворе HNO_3.

Кальциевый мембранный электрод. Внутреннюю полость промывают дистиллированной водой и дважды 0,1 М раствором $CaCl_2$, заливают 1,5 $см^3$ 0,1 М раствора $CaCl_2$ и погружают в раствор внутренний полуэлемент. Собранный электрод хранят в 0,001 М растворе $CaCl_2$.

Сравнительный хлорсеребряный электрод. Промывают дистиллированной водой и заливают при 20°C раствором KCl. Закрывают отверстие для заливки пробкой и выдерживают электрод сначала в кипящей, а затем в воде комнатной температуры по 15 мин. (в три цикла). Электрод погружают в воду на 60 – 70 мм. Хранят электрод, надевая колпачок, заполненный дистиллированной водой, и закрывая отверстие для заливки KCl. В рабочем состоянии это отверстие должно быть открыто.

Градуировка ионоселективных электродов. Перед использованием каждого ионоселективного электрода для него необходимо построить градуировочный график. Подготовленный к работе ионоселективный электрод (его рабочую часть) погрузить в стаканчик со стандартным раствором, ввести в этот же раствор электрод сравнения. Присоединить электроды к измерительному прибору и измерить ЭДС в милливольтах (мВ). Промыть электроды дистиллированной водой и погрузить в стандартный раствор другой концентрации. Подобным образом выполнить измерения ЭДС для нескольких стандартных растворов и построить калибровочный график, откладывая по оси ординат значения

pX, а по оси абсцисс – значения ЭДС в мВ. Затем находят тангенс угла наклона градуировочной прямой. Для одновалентных ионов он должен быть равен 58 мВ, для двухвалентных – 29 мВ.

Использование результатов анализа. Ионометрия наряду с фотометрией является одним из наиболее распространенных методов анализа в агрохимии. Простота в обслуживании и экспрессность – основные характеристики метода. С помощью ионометрии определяют такие агрохимические показатели, как pH, содержание калия и нитратов, натрия и кальция. Определяемая величина pK лежит в основе понятия калийного потенциала – важнейшего показателя калийного состояния почвы.

Ионометрия позволяет быстро и просто осуществлять контроль содержания фторидов в почвах, растениях и поливных водах.

РЕНТГЕНОФЛУОРЕСЦЕНТНЫЙ МЕТОД АНАЛИЗА

Теория вопроса, значение и принцип метода

Рентгеноспектральный флуоресцентный анализ (РФА) является физическим методом. В основе его лежат процессы возбуждения атомов вещества и возникновения флуоресцентных рентгеновских характеристических (вторичных) излучений под воздействием рентгеновского облучения (первичного излучения). Наличие характерных спектральных линий свидетельствует об элементном составе исследуемого образца. Интенсивность линий связана с уровнями содержания соответствующих элементов.

Приборы для рентгенофлуоресцентного анализа, как правило, полностью автоматизированы и обычно состоят из трех основных частей: физического блока, включающего рентгеновскую трубку и детектор возбужденного излучения; многоканального спектрометра и ЭВМ, которая управляет ходом анализа и обрабатывает данные.

В физическом блоке прибора тормозное излучение (10 – 50 кВ) с антикатода рентгеновской трубки (из вольфрама или молибдена) попадает на поверхность анализируемого образца под строго постоянным углом. Вторичное излучение от образца регистрируется, преобразуется и обрабатывается.

По принципу диспергирования излучения, поступающего от образца, рентгенофлуоресцентные анализаторы делятся на две группы – волновые и энергодисперсионные.

К первой группе относятся кристалл-спектрометрические приборы со сканирующими или фиксированными каналами для регистрации вторичного излучения. Примером может служить рентгеновский спектрометр отечественного производства «Спектроскан». Возникшее вторичное излучение исследуется в нем кристаллом-анализатором (из фторида лития или германия) и пропорциональным детектором, которые в процессе

измерения перемещаются с помощью прецизионного гониометра. Каждому фиксированному положению гониометра соответствует определенная длина волны излучения. Содержание элементов рассчитывается с помощью микропроцессора. Диапазон определяемых элементов – от кальция до урана.

Ко второй группе приборов относятся анализаторы с полупроводниковым детектором. Детектор диспергирует по энергии одновременно все падающее излучение и с помощью многоканального анализатора формирует спектр рентгеновской флуоресценции образца. Примером второй группы приборов может служить энергодисперсионный рентгенофлуоресцентный анализатор ТЕФА-6111 фирмы Ортек (США). Вторичное излучение поступает на полупроводниковый Si(Li) детектор, где преобразуется в электрические импульсы с амплитудой, пропорциональной энергии рентгеновских квантов. Импульсы измеряются и накапливаются в многоканальном анализаторе. Спектр образуется в результате накопления данных и представляет совокупность характеристических излучений элементов, содержащихся в образце. Диапазон определяемых элементов – от натрия до урана.

Широкий диапазон проникающей способности рентгеновского первичного и вторичного излучения позволяют получить излучающие слои толщиной от целых до тысячных долей миллиметра. Элементы, содержащиеся в пробе, поглощают как первичное излучение – при проникновении его в образец-излучатель, так и вторичное – при выходе его из излучателя. Взаимодействие первичного и вторичного излучения с веществом излучателя определяет зависимость интенсивности аналитических линий не только от содержания исследуемого элемента, но и от химического состава анализируемого образца. С этим связан основной недостаток метода – сильное влияние матрицы исследуемого образца на интенсивность линий вторичного рентгеновского спектра определяемых элементов.

Основные преимущества РФА перед другими аналитическими методами заключаются в возможности автоматизированного экспрессного одновременного определения большого числа химических элементов от натрия до урана в широком диапазоне их концентраций от $0{,}000n$ до n %, в недеструктивном характере метода, в высокой воспроизводимости определений как высокого, так и низкого содержания элементов.

Способы приготовления образцов-излучателей различны, но все они сводятся к получению однородного и представительного по химическому составу образца с минимальной неоднородностью и высоким качеством поверхности. В зависимости от условий анализа или методики определения используют толстые (насыщенные) или тонкие (ненасыщенные) излучающие слои пробы. Излучатели из порошков

готовят обычно под большим давлением, в некоторых случаях вводят для прочности определенное количество связующего вещества (крахмал, полиэтилен и т.д.).

В последнее время разработаны методики с переведением определяемых элементов в раствор и последующим осаждением их на осадке гидроксида циркония, а также на различных специальных фильтрах типа ДЕТАТА, КАМА и др. В качестве образцов-излучателей в этом случае используются названные фильтры или коллекторы. Использование таких методик позволяет снизить матричные эффекты, а также улучшить чувствительность определения за счет концентрирования пробы.

Определение элементного состава образцов в процессе рентгенофлуоресцентного анализа проводят методами внешнего стандарта, внутреннего стандарта и стандарта-фона.

Метод внешнего стандарта заключается в том, что рентгенофлуоресцентный анализатор градуируют аттестованными по химическому составу стандартными образцами, близкими по своим характеристикам к исследуемому объекту. Затем сравнивают интенсивности линий определяемых элементов исследуемых образцов с интенсивностями линий тех же элементов в стандартных образцах.

Сравнение интенсивности аналитической линии определяемого элемента с интенсивностью линии какого-либо другого элемента называют методом внутреннего стандарта.

Метод стандарта-фона основан на том, что с помощью стандартных образцов снимают зависимость отношения интенсивности вторичного излучения определяемого элемента к интенсивности рассеянного первичного излучения антикатода рентгеновской трубки от содержания элемента. Сравнивая затем при анализе неизвестных проб эти отношения с полученными отношениями интенсивностей при градуировке, находят содержание определяемого элемента.

Сравнение результатов рентгенофлуоресцентного и химического анализа проб почв и растений показывает, что совпадение данных находится в пределах случайных погрешностей химического метода.

Подготовка проб почв к анализу. Навеску воздушно-сухой почвы 4 – 5 г истирают и гомогенизируют на мельнице в циркониевых сосудах в течение 20 – 40 мин. (образцы почв глинистого состава растирают 20 мин., суглинистого – 30, песчаного и супесчаного – 40 мин). Гранулометрический состав проб после измельчения должен быть таким, чтобы 90% по массе составляли частицы менее 10 мкм. Состав следует периодически контролировать с помощью рентгенорадиометрического седиментационного метода.

Из растертой пробы почвы берут навеску (масса навески зависит от типа используемой аппаратуры) и с помощью специального пресса с усилием 5 т/см^3 готовят таблетки.

Подготовка растительных проб. Тонко измельченные растительные пробы спрессовывают в таблетки при усилии 5 т/см^3. Таблетированные растительные пробы высушивают в термостате или сушильном шкафу при температуре 105°С в течение 1,5 – 2 ч.

Использование результатов анализа. Рентгенофлуоресцентный метод все чаще применяют для анализа агрохимических и биологических объектов. Изучение химического состава почв, удобрений, растений и т.д. необходимо в целях обеспечения производства безопасной и полноценной сельскохозяйственной продукции. Рентгенофлуоресцентный анализ позволяет определять одновременно большинство макро- и микроэлементов, включая такие важные в агрохимии, как S, P, Cl, K, Ca, Mg, Si, Al, Fe, Mn, Cu, Zn. Это один из самых экспрессных методов анализа. Производительность достигает 100 – 120 образцов за рабочий день.

АТОМНО-ЭМИССИОННЫЙ МЕТОД АНАЛИЗА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИНДУКТИВНО СВЯЗАННОЙ АРГОНОВОЙ ПЛАЗМЫ

Теория вопроса, значение и принцип метода

Атомно-эмиссионный анализ с индуктивно связанной аргоновой плазмой (ИСП) основан на возбуждении элементов средой высокотемпературного (11000 К) ионизированного аргона с последующей регистрацией их характеристических спектров эмиссии.

Элементный состав пробы определяют, измеряя спектральный состав и интенсивность возбужденного излучения. Анализ в ИСП дает возможность в зависимости от конструктивных особенностей применяемого для регистрации излучения спектрометра проводить качественный или количественный параллельный (прибор с полихроматором) и (или) последовательный (прибор со сканирующим монохроматором) элементный анализ до 70 элементов в любых пробах.

Схема аналитической установки для атомно-эмиссионного анализа с индуктивно связанной аргоновой плазмой показана на рис. 15. Принципиальная схема включает: ВЧ-генератор; питаемую от него медную водоохлаждаемую спираль (индуктор), внутри которой помещена кварцевая горелка, охлаждаемая потоком газа или воды; устройство для подачи пробы в плазменный факел (распылитель). Электрический ток высокой частоты, текущий через индуктор, возбуждает высокочастотное магнитное поле, которое в свою очередь индуцирует высокочастотный электрический разряд в потоке рабочего газа (аргона) внутри горелки в области индуктора.

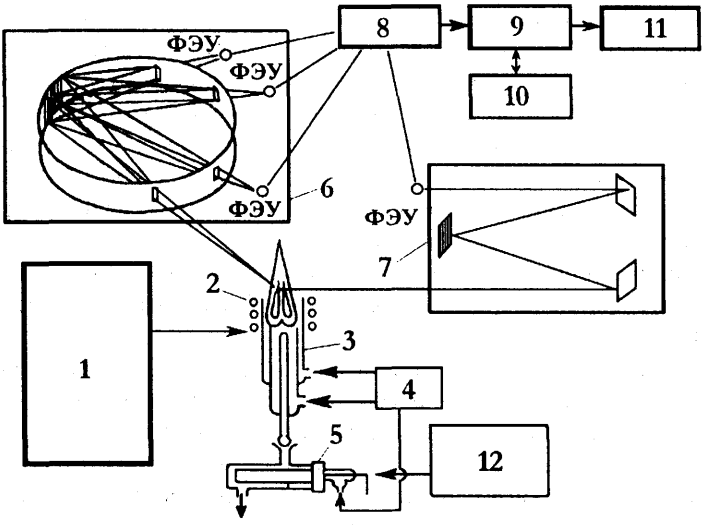


Рис. 15. Схема установки для атомного эмиссионного спектрального анализа жидкостей в ИСП:

1 – высокочастотный генератор. 2 – водоохлаждаемая спираль индуктора. 3 – газоохлаждаемая плазменная горелка. 4 – блок регулируемого газового питания горелки. 5 – пневматический распылитель анализируемой жидкости. 6 – спектральный прибор (полихроматор). 7 – монохроматор (альтернативно или совместно с полихроматором). 8 - считывающая электроника, 9 – микроЭВМ, 10 - дисплей. 11 – печатающее устройство. 12 – устройство для смены и подачи в распылитель анализируемых жидкостей

В результате в этой области горелки аргон нагревается до очень высокой температуры, образуется газовый плазменный факел, в котором и осуществляется испарение, атомизация подаваемой в горелку анализируемой пробы и возбуждение ее оптического излучения. Оптическое излучение пробы разлагается в спектр с помощью полихроматора или монохроматора и регистрируется фотоэлектрическим способом.

Благодаря химически нейтральной среде аргона, высокой температуре плазмы данный метод обладает рядом достоинств. К ним относятся высокая стабильность, узкие спектральные линии без самопоглощения, большая эффективность возбуждения. Все это приводит к уникальным аналитическим возможностям: низкому пределу детектирования, высокой сходимости результатов, широкому интервалу линейности градуировки (4 – 6 порядков), большому интервалу определяемых концентраций (от 0.000000n до 100 мг/см^3), слабовыраженным матричным эффектам.

Наряду с несомненными достоинствами метод атомно-эмиссионного анализа с ИСП имеет и ряд недостатков, которые необходимо учитывать при анализе. Основным является наличие спектральных помех, выраженных несколько сильнее, чем при использовании других

источников возбуждения. Для снижения этих помех необходим тщательный выбор соответствующих спектральных линий, которые должны быть свободными от наложения спектральных линий других элементов анализируемой пробы и, если речь идет об определении очень малых количеств, по возможности наиболее интенсивных линий данного определяемого элемента. Труднее поддаются коррекции помехи, связанные с изменением вязкости, способности к распылению и другими физическими свойствами растворов. Наиболее надежный способ устранения подобных влияний – использование для градуировки прибора стандартных растворов, максимально приближенных по составу к анализируемым.

Атомно-эмиссионным методом с ИСП можно анализировать практически любые жидкие пробы. Это могут быть вытяжки из почв, природные воды, а также разложенные и переведенные в раствор пробы почв, растений, горных пород и т.д. Система распыления и плазменный факел выдерживают агрессивные кислые среды, высокое содержание солей в растворах, органические растворители. Существуют модели спектрометров, рассчитанные на анализ суспензий или прямой анализ твердых проб, а также сочетающие в себе системы для выделения интересующих элементов из жидкой или твердой фазы в газообразную, которая непосредственно вводится и анализируется в ИСП.

При анализе почв и растений атомно-эмиссионным методом с ИСП используют традиционные способы подготовки проб. При определении валового содержания элементов в почвах – это методы кислотного разложения проб и сплавления. При определении подвижных форм элементов – разнообразные вытяжки. Растения анализируют после сухого озоления или кислотного разложения.

Техника выполнения измерений осуществляется в строгом соответствии с инструкцией по эксплуатации конкретной модели атомно-эмиссионного спектрометра с ИСП.

Использование результатов. Метод атомно-эмиссионной спектрометрии с индуктивно связанной плазмой позволяет определять в почвах, растениях, удобрениях макро- и микроэлементы. На основании этих данных можно судить об обеспеченности почв элементами питания и микроэлементами, о состоянии растений в процессе их развития, о некоторых показателях пищевой ценности сельскохозяйственной продукции. Получение сведений о содержании в анализируемых объектах тяжелых металлов, радиоактивных элементов (уран, торий и др.) необходимо для обеспечения получения качественной безопасной продукции.

Полученные сведения о содержании тяжелых металлов в почвах и растениях могут быть использованы при осуществлении систематического контроля или разовой оценке состояния (загрязнения) почв агроландшафтов и продукции растениеводства.

С целью получения незагрязненных сельскохозяйственных продуктов разработаны предельно допустимые концентрации и ориентировочно допустимые концентрации химических элементов в почве, рекомендованы максимально допустимые концентрации тяжелых металлов и фтора в поливных водах (см. ПРИЛОЖЕНИЕ, табл. 19 – 20).

Информацию о тяжелых металлах, являющихся необходимыми элементами жизненно важных процессов – цинке, меди, кобальте, марганце, железе (в агрохимии их принято называть микроэлементами, иногда биомикроэлементами) – следует использовать при оценке обеспеченности почв микроэлементами. В таблицах 21 и 22 ПРИЛОЖЕНИЯ приведены градации для некарбонатных и карбонатных почв по обеспеченности микроэлементами.

При дефиците микроэлементов в почвах рекомендуется применение соответствующих микроудобрений. Избыток микроэлементов в почвах часто влечет за собой превышение допустимых концентраций микроэлементов в растениях (что делает невозможным потребление их человеком и животными) и в крайнем варианте приводит к проявлению фитотоксичности.

Источники ошибок при определении тяжелых металлов в почвах, растениях, водах

Получение достоверных сведений о содержании тяжелых металлов в природных средах (почва, растения, воды) зависит от выполнения целого ряда необходимых условий. Можно выделить следующие основные этапы, определяющие накопление погрешностей в конечном результате: отбор проб, их подготовка и выполнение анализа.

Отбор проб. На этапе отбора проб почв и растений происхождение ошибок часто связано с нарушением имеющихся рекомендаций по получению репрезентативного среднего образца, наиболее полно отражающего неоднородность химического состава исследуемого объекта.

В процессе взятия образцов почв, растений и вод возможно загрязнение материала.

При отборе проб почв для анализа на цинк, мышьяк, медь, ртуть, свинец, кадмий можно использовать инструменты (буры, лопаты, ножи) из любой стали, но тщательно очищенные от ржавчины. Если предполагается определять в собранном материале элементы группы железа и молибден, то в процессе отбора почвенного образца следует постоянно счищать и удалять слой почвы, соприкасающийся с поверхностью ножа или лопаты. Недопустимо использование оцинкованных ведер, эмалированных тазов, окрашенных инструментов.

Наиболее распространенный упаковочный материал для почвенных и растительных проб – мешочки из плотной хлопчатобумажной отбеленной ткани. Однако следует иметь в виду, что новыми мешочками даже из отбеленной ткани можно внести загрязнение

цинком, поэтому перед употреблением новых мешочков их необходимо постирать, а затем промыть в дистиллированной воде и высушить. Хранят мешочки в плотно закрывающейся таре.

Хорошим упаковочным материалом являются полиэтиленовые пакеты и пленка, а также бумажная калька – восковка и пергамент. Клееная бумага (типа крафт) может быть причиной загрязнения проб бором.

При отборе растительного материала следует избегать загрязнения образцов почвой, удобрениями, сухими атмосферными выпадениями. Рекомендуется растения отмывать в дистиллированной воде или в 0,1%-м растворе ЭДТА и высушивать в марлевых мешках. Причем отмывать следует только свежевзятый материал, так как после увядания из растительной ткани тяжелые металлы легко переходят в воду.

При отборе проб природных вод (в том числе лизиметрических, оросительных и т. д.) необходимо тщательно выбрать и подготовить посуду, поскольку емкость, с одной стороны, не должна быть источником загрязнения образца, с другой стороны – не должна служить причиной утраты пробой отдельных компонентов вследствие процессов их химического взаимодействия с материалом посуды. Следует помнить, что бутылочные сорта стекол, особенно окрашенные, содержат примеси тяжелых металлов. Поэтому в качестве сосудов для отбора проб природных вод на анализ микрокомпонентов следует использовать бутыли из бесцветного стекла или полиэтилена без наполнителя. Необходимо иметь в виду, что резиновые пробки могут загрязнять образец цинком, свинцом, сурьмой. Для определения бора пробы воды следует отбирать в полиэтиленовую посуду. Емкости для отбора воды на анализ ртути должны быть стеклянными.

Сосуды для отбора проб воды необходимо подготовить так же, как и всю посуду, задействованную в процессе определения тяжелых металлов (в том числе в почвах, растениях). Стеклянную посуду моют водой и моющими средствами, затем промывают горячим 5%-м раствором соляной кислоты, ополаскивают водой и дважды – дистиллированной водой. Можно после основной очистки моющими средствами замочить посуду на 10 – 15 мин (пробирки, пробки) или неоднократно промыть ее 0,04% раствором дитизона или 0,1% раствором ЭДТА и затем ополоснуть водой и дважды дистиллированной водой. Не следует использовать хромовую смесь, поскольку возможно загрязнение хромом и некоторыми другими тяжелыми металлами. Полиэтиленовые сосуды очищают 1 н. раствором соляной кислоты, водой и дистиллированной водой.

Перед взятием пробы посуду ополаскивают 2 – 3 раза водой, отбираемой для анализа. Пробу воды в стеклянной посуде на определение тяжелых металлов подкисляют концентрированной азотной кислотой

марки «о.с.ч.» до pH < 2 для предотвращения адсорбции на стенках. Воду в емкостях из полиэтилена можно не подкислять. Для подавления развития микроорганизмов в пробу воды добавляют 2 – 3 капли толуола. Срок хранения законсервированных описанным выше способом проб достигает 1 месяца. Допустимое время хранения образцов воды на определение бора составляет несколько месяцев (пробу не подкисляют).

Аналогично можно консервировать и водные вытяжки из почв.

Подготовка почвенных и растительных *проб* образцов включает в себя две стадии: 1) измельчение (растирание); 2) подготовку для анализа (приготовление вытяжек, разложение, озоление и переведение в раствор).

На первой стадии процесса подготовки погрешности в основном связаны с загрязнением проб. Не следует измельчать образцы на мельницах с металлическими рабочими частями – это может вызвать загрязнение проб элементами группы железа. Почвенные образцы лучше всего растирать в агатовой или халцедоновой ступке, а также в мельницах с аналогичными рабочими частями. После каждой растертой пробы ступку и рабочие части мельницы необходимо протирать дистиллированной водой и высушивать ацетоном или спиртом. Для просеивания растертого образца следует использовать сито с капроновым полотном, вставленным в оправу из органического материала (диаметр отверстий 1 мм).

Необходимо помнить, что при пересыпании растертой до 1 мм почвы и измельченного растительного материала в какую-либо тару для хранения (обычно используют полиэтиленовые или стеклянные банки с притертой пробкой) происходит перераспределение частиц по удельному весу и крупности. Поэтому перед взятием навески образец следует хорошо перемешать, чтобы обеспечить необходимую представительность.

На второй стадии процесса подготовки проб погрешности могут быть связаны как с загрязнением исследуемого материала, так и с потерей части определяемых микрокомпонентов.

Источником загрязнения на данной стадии могут служить посуда и реактивы. Для сухого озоления растительного материала и прокаливания осадков лучше использовать кварцевые и платиновые чашки и тигли, для мокрого сжигания – кварцевую и платиновую посуду, фторопластовые автоклавы. Фарфоровые тигли и чашки могут стать причиной загрязнения проб медью. При подготовке и выполнении анализа на тяжелые металлы может применяться лабораторная посуда из стекла любой марки. Для определения бора необходимо использовать кварцевую посуду или посуду из стекла марок ХУКЛП, ДГ-29, С-90. Вся посуда должна быть тщательно вымыта (как описано выше). Однако, даже при соблюдении основных требований по очистке посуды, лучше исключить из использования те лабораторные предметы, которые были в контакте с очень высокими концентрациями растворов тяжелых металлов.

Например, не следует использовать одну и ту же посуду при проведении определения небелкового азота (в процессе осаждения белков применяют 4%-й раствор уксуснокислого свинца) и выполнении анализа на тяжелые металлы.

Все реактивы, используемые при определении тяжелых металлов должны быть квалификации «о.с.ч.». или в крайнем случае «х.ч.». Реактивы другой квалификации могут быть использованы только для подготовки посуды.

Ошибки, вызванные потерей части некоторых тяжелых металлов, в основном связаны с *сухим озолением проб*. Для растительного материала сухое озоление – это основной способ подготовки к определению тяжелых металлов; для почвенных образцов – необходимая стадия при проведении эмиссионного спектрального анализа. Погрешности анализа на данной стадии могут быть обусловлены потерями тяжелых металлов в результате испарения, взаимодействия золы с материалом тигля и неполным растворением золы.

Для избежания потерь летучих соединений тяжелых металлов рекомендуется проводить озоление при температуре 450°С (не выше) и нагревание муфельной печи осуществлять постепенно, повышая ее температуру на 50°С каждые полчаса. В процессе озоления растительных и почвенных проб при температуре 500°С возможны частичные потери свинца, кадмия, цинка, молибдена в зависимости от вида и состава пробы.

Не следует использовать для озоления проб старые кварцевые тигли и чашки, поскольку на их поверхности прочно сорбируются свинец и медь; цинк в присутствии хлоридов может взаимодействовать с кварцем с образованием силикатов, особенно при температуре от 500°С и выше.

Потери тяжелых металлов, обусловленные *частичным растворением золы* растительного материала, связаны в основном с неполной минерализацией пробы. При наличии обугленных частиц золу смачивают по каплям азотной кислотой, высушивают на электроплитке и озоляют в муфельной печи при 300°С в течение 30 мин. Этот цикл может быть повторен несколько раз до получения белой или слегка окрашенной золы.

НЕЙТРОННО-АКТИВАЦИОННЫЙ МЕТОД АНАЛИЗА РАСТЕНИЙ

Теория вопроса, значение и принцип метода

Нейтронно-активационный метод (НАА) определения некоторых элементов (N, P, K, Mg, Cl, Si) в растениях основан на спектрометрии гамма-излучения наведенной радиоактивности, возникающей при облучении проб потоком быстрых нейтронов, источником которых является портативный генератор. В результате взаимодействия потока нейтронов с ядрами элементов, составляющих растительную пробу, возможно протекание различных процессов, которые приводят к изменению состояния

облучаемых ядер. Это состояние неустойчиво: происходит радиоактивный распад образовавшихся ядер, обычно сопровождающийся гамма-излучением. Энергия испускаемых гамма-квантов различна и характерна для каждого типа ядер образовавшихся радионуклидов, а интенсивность моноэнергетического излучения пропорциональна количеству содержащихся в образце однотипных ядер.

Гамма-кванты с помощью специальных детекторов преобразуются в электрические импульсы, амплитуда которых пропорциональна энергии гамма-квантов. Специальные многоканальные анализаторы сортируют импульсы по амплитуде. Результаты такой сортировки представляются в виде гамма-спектра, в котором отдельные линии характеризуют наличие того или иного химического элемента, а их величина пропорциональна его количественному содержанию. Процесс распада образовавшихся радионуклидов происходит не мгновенно, а в течение некоторого времени, которое также можно использовать для повышения избирательности метода.

Принципиально возможно рассчитать количество определяемых элементов на основании полученной спектрограммы и некоторых физических постоянных, характеризующих особенности строения ядер элементов, интенсивность возбуждающего излучения и эффективность регистрации гамма-излучения. Такой подход называется абсолютным. Однако на практике применяется относительный метод, позволяющий исключить ряд существенных погрешностей и ограничений абсолютного метода. Если одновременно с анализируемой пробой облучать точно известное количество определяемого элемента – эталон, то содержание элемента в пробе рассчитывается из простого соотношения

$$\frac{m_x}{m_э} = \frac{A_x}{A_э},$$

где m_x и $m_э$ – количества элемента соответственно в пробе и эталоне; A_x и $A_э$ – соответствующие активности.

Основное ограничение метода в инструментальном варианте (т.е. без разрушения образца) связано с наличием интерферирующих реакций, т.е. реакций, в результате которых из разных ядер образуются одинаковые радионуклиды. Например, при активации нуклида ^{31}P быстрыми нейтронами образуется радионуклид ^{28}Al, последний образуется также по другой реакции из нуклида ^{28}Si. Естественно, идентифицировать указанные элементы по одному и тому же радионуклиду невозможно, тем не менее в ряде случаев удается найти инструментальный вариант решения проблемы интерференции.

В состав комплекса аппаратуры и оборудования автоматической установки НАА растений входят: генератор нейтронов, пневмотранспортное устройство, сцинтилляционные блоки детектирования для измерения наведенной активности проб, стойка спектрометрических устройств,

пульт управления генератором нейтронов и пневмотранспортной системой, ЭВМ с телетайпом.

Реактивы и их приготовление

Для выполнения НАА растений не требуется каких-либо химических реактивов, воздействующих на пробу. Однако перед началом анализа должны быть сняты спектры химических элементов, определение которых предполагается выполнить. Экспериментальными исследованиями выяснено, что в подавляющем большинстве растений быстрыми нейтронами активируются в достаточной степени ядра следующих элементов: N, P, K, Mg, Cl, Si. Для снятия гамма-спектров могут быть использованы следующие химически чистые соединения: мочевина, трифенилфосфат, щавелевокислый калий, окись магния, двуокись кремния, хлорированный парафин. Указанные реактивы смешиваются с химически чистой целлюлозой. Для приготовления берут реактивы и целлюлозу в количествах, приведенных в табл. 3.

3. Реактивы для приготовления эталонов химических элементов

Наименование эталона	N	P	K	Mg	Cl	Si
Вес химического реактива, г	3.3	9.3	14.0	5.0	18.5	0.6
Вес целлюлозы, г	21.8	18.2	16.0	22.1	12.0	25.8
Наименование реактива	$(NH_2)_2$ CO	$(C_6H_5O)_3$ PO	$K_2C_2O_4$	Mg	хлорар-парафин	SiO_2

Полученной смесью заполняется специальная предварительно взвешенная полиэтиленовая капсула объемом 48 см^3. Капсула со смесью взвешивается, по разнице масс определяется масса смеси в капсуле, а затем рассчитывается количество содержащегося химического элемента.

Подготовка материала к анализу

Отбор проб для анализа производится согласно ГОСТу 120036. Пробы представляются в виде зерна или измельченные. Пробы должны быть очищены от посторонних примесей (почва, обломки стеблей и т.д.). Особое требование предъявляется к содержанию кремнезема в пробах (в виде песка, пыли и т. д.), которое по возможности должно быть сведено к минимуму всеми возможными способами. Пробы должны быть доведены до воздушно-сухого состояния. В зависимости от массы представленных проб последние можно анализировать в навесках малого и большого объемов. Минимальная масса представляемого образца выбирается согласно таблице. Для культур, не указанных в таблице, минимальный объем должен быть 52 см^3 (большие навески) или 13 см^3 (малые навески).

При измерении проб по объему необходимо соблюдать одинаковые условия уплотнения материала в измеряемом объеме. Зерно

насыпают до указанного объема в полиэтиленовую капсулу, уплотняют встряхиванием, при уменьшении объема дополняют его до заданного. Размолотый или измельченный материал насыпают также до выбранного объема (52 или 13 $см^3$), уплотняют с усилием 4 – 7 кг и затем вновь доводят до нужного объема.

Представленные пробы перед анализом взвешивают с точностью до 0,01 г и герметично упаковывают в полиэтиленовые цилиндрические капсулы, которые нумеруются (табл. 4).

4. Минимальная масса образцов, представленных для анализа на автоматической установке НАА

Культура	Вид обработки образца	Масса, г	
		большие навески	малые навески
Пшеница, рожь	зерно	48	12
	мука	50	13
	солома	18	–
Овес	зерно	36	9
	мука	40	10
	солома	16	–
Ячмень	зерно	44	11
	мука	48	12
	солома	16	–
Горох	зерно	48	12
	мука	52	13
	солома	16	–
Клевер	мука	36	9
Вика	мука	24	6
Картофель	ботва	40	10
	корни	48	12
	клубни	64	16
Вико-овсяная смесь	мука	24	6
Кукуруза	зерно	48	12
	мука	50	13

Ход анализа

Перед началом анализа производится снятие спектров эталонов N, P, K, Mg, Cl, Si и фонового образца – целлюлозы. Процедура снятия эталонных спектров выполняется в той же последовательности, что и при анализе растительной пробы.

Анализируемую пробу вводят в пневмотранспортную систему установки через загрузочное устройство для осуществления всего цикла анализа. В процессе введения пробы в пневмосистему (одновременно

вводится 10 проб) оператор набирает на цифровом табло порядковые номера и массы проб и нажатием кнопки передает эту информацию на ЭВМ. В дальнейшем ЭВМ управляет движением анализируемой пробы до окончания анализа, обеспечивая ее перемещение к станциям облучения, охлаждения и счета. Перед началом анализа оператор задает через телетайп программу автоматического анализа.

В автоматическом режиме выполняется следующая последовательность операций анализа: активация пробы быстрыми нейтронами, выдержка пробы после облучения, измерение наведенной активности проб, расшифровка спектров наведенного излучения, расчет весового содержания и выдача результатов анализа.

Проба в капсуле поступает по пневмотранспортной системе на облучение в камеру генератора нейтронов, после облучения в течение заданного времени (1 – 2 мин) капсула с пробой следует на первую станцию охлаждения, где выдерживается некоторое время (3 – 5 мин) для того, чтобы успели распасться некоторые мешающие радионуклиды, затем капсула с пробой проходит на первую станцию счета, где происходит регистрация наведенного в пробе гамма-спектра. Регистрация осуществляется специальным сцинтилляционным детектором и затем двумя одноканальными анализаторами. Спектр из электронной памяти анализаторов передается в память ЭВМ, где хранится некоторое время, а затем поступает на обработку по специальной программе. С первой станции счета проба подается на вторую станцию охлаждения, а затем на вторую станцию счета, где происходит регистрация гамма-спектра пробы многоканальным анализатором и информация передается также в память ЭВМ. Вторая станция счета позволяет использовать особенность радиоактивного распада, связанную с временными характеристиками, что повышает избирательность метода.

Обработка информации может проводиться различными методами. В частности, для многоканального спектра применен метод наименьших квадратов: для каждого спектра эталона подбирается такой множитель, чтобы сумма эталонных спектров, умноженных на свой коэффициент, наиболее близко подходила к спектру анализируемой пробы. В качестве критерия близости применяется сумма квадратов разностей между содержанием канала спектра пробы и суммой содержаний каналов спектров эталонов, умноженных на свой коэффициент. Математические методы позволяют определить коэффициент при условии минимума указанной суммы квадратов. Резюмируя сказанное, можно записать выражение для суммы квадратов, минимизация которой позволяет определить искомые коэффициенты

$$E = \sum_{i-1}^{N} (S_i - \sum_{i-1}^{M} Y_j C_{ij})^2 \rightarrow min$$

где Y_j – искомый коэффициент; S_i – содержание i-го канала спектра пробы; C_{ij} – содержание i-го канала спектра j-го эталона, имп; N – число каналов в спектре; M – число используемых эталонных спектров.

После того как по специальной программе ЭВМ рассчитает коэффициенты Y_i, определение содержания искомого элемента в пробе не вызывает трудностей. Для этого необходимо знать массу искомого элемента в эталоне и массу анализируемой пробы, отсюда

$$X_i = Y_i \cdot \frac{m_{i\text{э}}}{m_0} \cdot 100$$

где Y_i – коэффициент, определенный методом наименьших квадратов, $m_{i\text{э}}$ – масса элемента в i-м эталоне; m_0 – масса пробы; X_i % – содержание искомого элемента в пробе.

Расчет процентного содержания элемента в растительной пробе проводится в автоматическом режиме по специальной программе. Результат выводится на печать в готовой форме.

Метрологические характеристики метода

НАА как количественный метод обладает следующими особенностями. Прежде всего, НАА – косвенный метод, так как непосредственно измеряется не сама масса искомого элемента, а наведенная активность (скорость счета), связанная с ней соответствующими уравнениями (см. *принцип метода*). Наведенная активность имеет дискретный характер и следует специфический форме распределения результатов измерения. Для многостадийного НАА (отбор проб, облучение, измерение и расчет количества искомых элементов) специфичны следующие источники погрешности: а) изменение потока нейтронов; б) интерферирующие ядерные реакции; в) процесс измерения активности (воспроизводимость геометрических условий, стабильность измерительной аппаратуры и т.д.); г) статистическая погрешность определения активности (статистический характер измеряемой величины, влияние фона и мешающих активностей).

Указанные возможные источники погрешности в той или иной степени оказывают влияние на точность получаемых результатов. Если в пробе и эталоне содержится одинаковое количество элемента, то и измеренные активности в определенном энергетическом диапазоне, где присутствует гамма-излучение с характерной для данного элемента энергией, будут одинаковыми. Неодинаковость измеренных активностей и характеризует сходимость метода. Статистический характер распада, изменение потока нейтронов при облучении эталона и образца, нестабильность электронной регистрирующей аппаратуры и другие факторы ограничивают точность метода. Измерения, проведенные на автоматической установке НАА растений, показали, что точность результатов анализа, если она не ограничена недостаточной статистикой отсчета, составляет 1,5 – 2%. Наибольшую погрешность в точность

результатов НАА вносит статистический характер регистрируемой информации. Поскольку статистика распада подчиняется закону Пуассона, то точность замера активности (обычно это число электрических импульсов, которое эквивалентно числу распадов) определяется следующим выражением:

$$\sigma_{отн} \sim \frac{1}{\sqrt{N}}$$

где $\sigma_{отн}$ – относительная среднеквадратическая погрешность; N – число зарегистрированных импульсов. Таким образом, чем меньше число регистрируемых импульсов, тем больше относительная погрешность. Когда концентрация искомого элемента уменьшается, снижается и связанная с ним наведенная активность (при прочих равных условиях), а, следовательно, возрастает относительная погрешность измерения активности и погрешность определения искомого элемента. Поэтому точность НАА не может рассматриваться в отрыве от конкретных условий, она является функцией многих переменных: концентрации определяемого элемента, наличия и концентрации мешающих элементов, производительности установки, стабильности нейтрального потока и других факторов. Например, при анализе зерна различных культур достигаются следующие точностные характеристики: сходимость при определении (N – до 3% (отн.), P – до 10%, K – до 10%); правильность (N – до 3%, P – до 5%, K – до 10%). Производительность анализа при этом составляет 250 проб за 8 часов на 6 указанных элементов.

Другие возможности применения метода. Практически без каких-либо существенных изменений НАА может быть применен для определения N, P, K, Mg, Cl, Si, Ca, Na в минеральных удобрениях. Смеси минеральных удобрений могут анализироваться с очень хорошей точностью на соотношении исходных веществ, что важно при оценке качества работы смесительных и разбрасывающих удобрения установок.

Незначительные изменения, внесенные в программу анализа, позволяют определять в почве общее содержание основных элементов: Si, Al, Fe, Mg, а также их соотношение. Производительность анализа здесь несколько снижена, а точность определения Si, Al, Fe достаточно высока и составляет в среднем 2 % (отн.).

Использование данных анализа. Знание основных питательных элементов (N, P, K, Mg) в растениях необходимо для определения их выноса урожаем с целью восполнения путем внесения соответствующих доз удобрений. Разработаны и применяются в отдельных случаях диагностические системы, позволяющие, в частности, в процессе развития растений скорректировать их минеральное питание с целью получения максимального урожая.

Особенно эффективна такая диагностика в отношении азотного питания. Определение N в зерне сельскохозяйственных культур является

показателем его качества по белку. Высокоточные системы НАА позволяют эффективно производить селекцию наиболее перспективных по содержанию белка линий сельскохозяйственных культур.

Важным является определение состава минеральных удобрений как для экспериментальных полевых и вегетационных исследований, так и для производственной практики.

Знание содержания основных почвообразующих элементов Si, Al, Fe, Mg, а также молярных отношений их окислов позволяет выяснить генезис почв, наметить пути их агропроизводственного использования.

Приготовление сбалансированных по минеральному составу кормовых рационов требует значительных объемов анализов растительных проб на содержание N (белок), P, K и других элементов, и применение такого экспресс-метода, как НАА, в данном случае оправдано.

МЕТОД СУХОГО СЖИГАНИЯ В ВЫСОКОТЕМПЕРАТУРНОЙ ПЕЧИ

Этот метод используют для определения органического и неорганического углерода, азота и серы в почвах. Метод основан на сожжении пробы в токе кислорода и избирательной регистрации выделившихся окислов (углерода, азота и др.).

Принцип метода

Динамический анализатор углерода основан на сожжении пробы в токе кислорода при программированном изменении температуры до 1000 – 1100° С и регистрации выделяющегося CO_2.

Анализатор азота в почве основан на модифицированном методе Дюма, сожжение пробы производится в присутствии окислителя – окиси меди – при температуре 1000°С в высокочастотной индукционной печи, окислы азота восстанавливаются до N_2, другие газы, мешающие определению N_2, поглощаются, и количество N_2 измеряется детектором по теплопроводности в токе газа-носителя – гелия.

Анализатор серы в почве использует сожжение пробы почвы (1 – 2 г) в токе кислорода при температуре 1300 – 1400°С и измерении количества выделившегося SO_2 инфракрасным детектором.

Никаких реактивов при анализе почв на содержание C, N, S на данных приборах не требуется. Почвы готовятся по стандарту, анализ их производится в сухом виде.

Ход анализа

Для определения углерода отбирается навеска от 0,01 до 1 г в зависимости от целей эксперимента. Навеска помещается в специальные тигли, которые затем поочередно устанавливаются в приемное устройство прибора. Оператор перед началом измерения обычным способом проводит калибровку прибора по пробам с известным содержанием

углерода. Когда анализируемая проба находится в приемном устройстве, оператор устанавливает на приборе ее вес и запускает кнопкой процесс анализа. Время определения органического и неорганического углерода составляет 4 – 8 мин. Диапазон измеряемых концентраций от 0,01 до 100%, погрешность определения около 2% (отн.).

Аналогично выполняются анализы почв на содержание азота и серы. Навеска почвенной пробы при определении N 0,1 – 0,3 г, время анализа около 6 мин. Диапазон измеряемых концентраций от 0,01 до 7%, погрешность измерения около 3% (отн.). При определении S берется навеска 1 – 2 г, время измерения 2 – 6 мин, диапазон измеряемых концентраций от 0,01 до 10%, погрешность измерения около 5%.

Содержание в почве органического и неорганического углерода, азота и серы характеризует гумусовое состояние почв, контроль за которым особенно важен при интенсивном земледелии.

Анализатор углерода является одновременно экспресс-анализатором и может использоваться как тонкий исследовательский инструмент для детальной характеристики углеродсодержащих компонентов почвы.

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

Теория вопроса, значение и принцип метода

Хроматография – метод разделения, обнаружения и определения веществ, основанный на различии их поведения в системе из двух несмешивающихся фаз – подвижной и неподвижной. Это наиболее распространенный, надежный и универсальный прием разделения самых разнообразных смесей.

Поскольку хроматографические процессы зависят от природы и концентрации веществ, хроматография является важным методом идентификации и определения веществ. Наиболее широко ее используют при разделении сложных смесей веществ (нефть, лекарственные препараты, вещества растительного происхождения, кровь и т. д.). В ряде случаев хроматография является лучшим или единственным методом анализа.

Хроматографический процесс заключается в перемещении подвижной фазы, содержащей компоненты разделяемой смеси, относительно неподвижной. Подвижной фазой может быть жидкость (раствор анализируемой смеси веществ) или газ (смесь газов или паров веществ), неподвижной фазой – твердое вещество или жидкость, адсорбированная на твердом веществе, которое называют носителем. При движении подвижной фазы вдоль неподвижной компоненты смеси сорбируются на неподвижной фазе. Каждый компонент сорбируется в соответствии со сродством к материалу неподвижной фазы (вследствие адсорбции или других механизмов). Поэтому неподвижную фазу называют также сорбентом. Захваченные сорбентом молекулы могут перейти в подвиж-

ную фазу и продвигаться вместе с ней дальше, затем снова сорбироваться. Таким образом, происходит распределение молекул каждого компонента между двумя фазами. Чем сильнее сродство компонента к неподвижной фазе, тем сильнее он сорбируется и дольше задерживается на сорбенте, тем медленнее его продвижение вместе с подвижной фазой. Поскольку компоненты смеси обладают разным сродством к сорбенту, при перемещении смеси вдоль сорбента произойдет разделение: одни компоненты задержатся в начале пути, другие продвинутся дальше и т. д. Итак, в хроматографическом процессе сочетаются термодинамический (установление равновесия между фазами) и кинетический (движение компонентов с разной скоростью) аспекты.

По способу хроматографирования различают колоночную и плоскостную хроматографию, из которых наиболее широко распространена колоночная.

Существует несколько приемов разделения веществ на колонках. Наиболее используемый из всех видов хроматографии – элюентная колоночная хроматография. При таком способе хроматографирования в колонку вводят небольшую порцию смеси и промывают колонку растворителем, называемым элюентом. По мере прохождения элюента через колонку вещества перемещаются вместе с ним с разной скоростью, зависящей от сродства к сорбенту. В результате на выходе из колонки сначала появляется наименее сорбируемое вещество, затем другие вещества в порядке возрастания сорбируемости. Фиксируя аналитический сигнал, на выходе получают элюентную хроматограмму (рис. 16. *а*), состоящую из ряда пиков, каждый из которых соответствует отдельным компонентам смеси. По оси абсцисс откладывают время, а по оси ординат – концентрацию веществ либо величину, связанную с ней (например, электропроводимость или оптическую плотность).

Полнота и скорость разделения веществ зависят от природы подвижной и неподвижной фаз, в частности от их агрегатного состояния. Подвижная фаза может быть газом или жидкостью, в зависимости от этого различают методы газовой и жидкостной хроматографии. Неподвижной фазой могут служить твердые вещества и жидкости, соответственно различают методы газотвердофазные и газожидкостные, а также жидкостнотвердофазные и жидкостножидкостные.

Разделение веществ протекает по разным механизмам в зависимости от природы сорбента и веществ анализируемой смеси. По механизму взаимодействия вещества и сорбента различают сорбционные методы, основанные на законах распределения, и гель-фильтрационные (проникающая хроматография), основанные на различии в размерах молекул разделяемых веществ. Наиболее многочисленная группа сорбционных методов включает адсорбционные, распределительные, ионнообменные и осадочные.

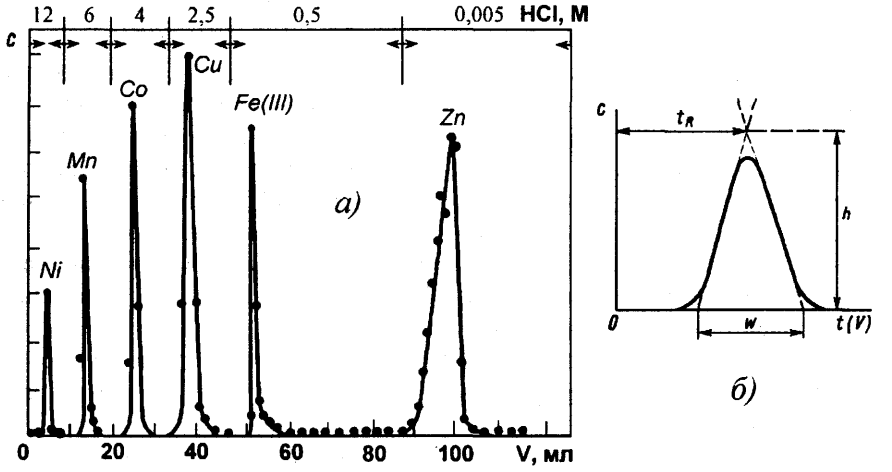


Рис. 16. а – Хроматограмма смеси катионов переходных элементов, полученная методом ионной хроматографии при элюировании раствором HCl с постоянно уменьшающейся концентрацией; б – характеристики хроматографического пика

Наиболее широко применяемые виды хроматографии: жидкостная (ионообменная, распределительная, высокоэффективная жидкостная) и газовая.

В данном практикуме изложены методы, проводимые с использованием высокоэффективной газовой хроматографии, для определения биологической активности почвы: активности денитрификации, несимбиотической азотфиксации, определения скорости эмиссии CO_2 в почве.

Подвижной фазой в газовой хроматографии является инертный газ (азот, гелий, водород). Пробу подают в виде паров, неподвижной фазой служит либо твердое вещество (газотвердофазная и газоадсорбционная хроматография), либо жидкость, нанесенная на твердый носитель (газожидкостная и газораспределительная хроматография). В аналитической химии чаще используют газораспределительную хроматографию.

В качестве носителей используют кизельгур (диатомит) – разновидность гидратированного силикагеля. Часто его обрабатывают реагентами, которые переводят группы Si – OH в группы Si – O – $Si(CH_3)_3$, что повышает инертность носителя по отношению к растворителям (способ силанизации). Таковыми являются, например, носители «хромосорб W» и «газохром Q». Носитель помещают в спиральные и капиллярные колонки. Спиральные колонки имеют диаметр 2 – 6 мм и длину до 20 м (поэтому их сгибают в спирали). Капиллярные колонки имеют диаметр 0,2 – 0,5 мм и длину до 10 см.

На кизельгур наносят неподвижную фазу, которую подбирают эмпирически для каждого разделения. Можно выделить три типа неподвижных фаз: неполярные (например, сквалан), умеренно полярные (например, динонилфталан), полярные (например, диметилформамид). Полярность неподвижной фазы должна быть близка к полярности анализируемой пробы. Например, неполярные пентан, бутан и пропан хорошо разделяются на сквалане. Иногда в качестве подвижной фазы используют органическое соединение, ковалентно связанное с носителем (химически связанные фазы). Такие фазы менее чувствительны к повышению температуры. Пробу (жидкую пробу) вводят шприцем, а газы – с помощью крана. Объем пробы мал: 0,01 – 50 мкл. Жидкие и твердые пробы перед введением в колонку должны быть переведены в парообразное состояние. Затем продувают инертный газ-носитель (часто под давлением, метод высокоэффективной газовой хроматографии). Выходящие из колонки компоненты можно детектировать различными способами и получать хроматограммы в виде пиков.

В основе количественного анализа лежит зависимость высоты пика h и его площади s от количества вещества. Для узких пиков предпочтительнее измерение h, для широких размытых – s. Площадь пика измеряют разными способами, например графически [площадь треугольника (рис. 16 *б*)] или планиметром. В современных хроматографах имеется специальное устройство (электрический или электронный интегратор), измеряющее площадь пиков.

Для определения концентрации обычно используют метод градуировочного графика: строят графики зависимости $h(s)$ от c для каждого компонента смеси.

Для непрерывной регистрации концентрации компонентов, выходящих из колонки, используют специальное устройство – детектор. Для регистрации можно использовать измерение любого аналитического сигнала, идущего от подвижной фазы и связанного с природой и количеством компонентов смеси.

В жидкостной хроматографии используют такие аналитические сигналы, как светопоглощение выходящего раствора (фотометрические детекторы), показатель преломления (рефрактометрические детекторы), потенциал и электрическая проводимость (электрохимические детекторы).

В газовой хроматографии применяют детекторы, действие которых основано либо на зависимости аналитического сигнала от концентрации компонента, либо на зависимости сигнала от скорости движения компонента. К первой группе относятся детекторы по теплопроводности и детекторы электронного захвата (ДЭЗ), ко второй – пламенно-ионизационный детектор (ПИД) и пламенно-фотометрический детектор.

Фотометрические детекторы. Излучение от источника (видимое или УФ) разделяется на два потока. Один из них проходит через кювету, в которую подается элюат, другой проходит через кювету сравнения. Затем оба потока попадают на два фотоэлемента. Для обработки информации в хроматограф включают компьютер. В некоторых случаях поток элюата перед подачей в кювету постоянно смешивают с раствором реагента, получая окрашенный или флуоресцирующий раствор, далее поступающий в кювету детектора.

Пламенно-ионизационный детектор. Действие этих высокочувствительных детекторов основано на возникновении ионов при сгорании органических соединений-газов. Ионы объединяют в направленный пучок и измеряют получившийся ток ионизации. Для сгорания в элюат вводят водород. ПИД особенно полезен при анализе фосфорорганических соединений.

Для проведения хроматографических анализов используют газовые хроматографы различных моделей. Так, определение биологической активности почвы проводят на газовых хроматографах (типа Chrom-41 с пламенно-ионизационным детектором), а при проведении поточных анализов используют автоматизированные системы (например, установка HP 7686 StepStation, рис. 17).

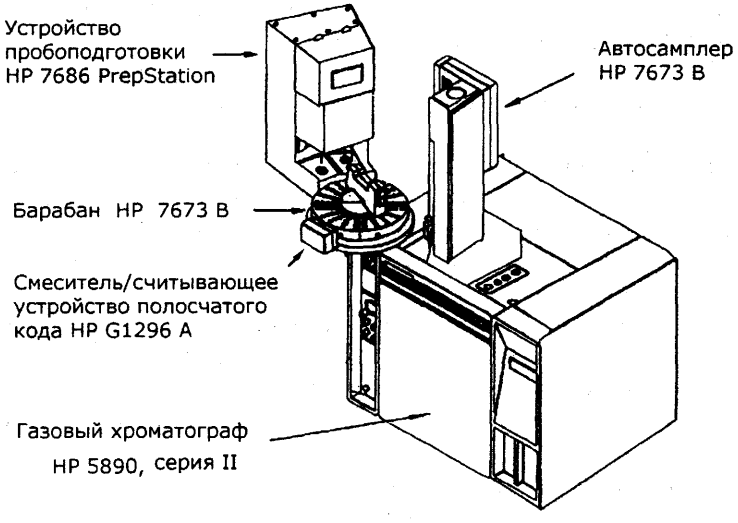


Рис. 17. Схема установки HP 7686 StepStation

Раздел II

АНАЛИЗ ПОЧВЫ

Отбор образцов почвы

В зависимости от цели агрохимического анализа пробы почвы отбирают по-разному. Обычно берут смешанные почвенные образцы из пахотного слоя. Но в зависимости от поставленной задачи образцы отбирают либо по генетическим горизонтам профиля из разреза или буром через каждые 5, 10, или 20 см до определенной глубины.

При отборе образцов в поле необходимо помнить о том, что смешанная средняя проба может быть составлена из отдельных образцов, взятых только в пределах одной почвенной разности. Если поле или участок имеет комплексный почвенный покров, то каждый смешанный образец отбирается с каждой почвенной разности.

Среднюю пробу составляют из многих индивидуальных образцов, отбираемых равномерно со всей площади участка или поля. При взятии образцов необходимо избегать нехарактерных мест, таких как площадки из-под куч навоза и прочих удобрений, западин, полос около дорог, бугров и т.д.

Образцы почвы берут буром на всю глубину пахотного слоя, или из прикопки, сделанной отвесно лопатой. Из вертикальной стенки ножом или лопаткой вырезают прямоугольную пластину так, чтобы в каждый образец попало такое количество почвы верхнего и нижнего ее слоев, которое пропорционально их мощности. Взятый образец тщательно перемешивают на листе фанеры или куске полиэтиленовой пленки. Затем из него меркой (стакан, банка и т.п.) отбирают небольшой объем почвы и высыпают в чистый почвенный мешочек. Эту операцию повторяют при взятии образов почвы из каждой точки поля или участка. Из всех отдельных образцов в смешанную среднюю пробу должно попасть примерно одинаковое количество почвы. Вес среднего образца 300 – 500 г.

Расположение точек для отбора образцов зависит от конфигурации поля. На узком, вытянутом в длину участке их можно разместить вдоль (посередине) поля. На широком, близком к квадрату поле оптимально шахматное расположение точек отбора образцов. На очень больших площадях отбор проб проводится по одной или двум диагоналям. Среднюю смешанную пробу составляют из нескольких десятков первоначальных проб.

В точках, намеченных для взятия образцов, предварительно чистой лопатой удаляют все остатки растительности.

Пробы желательно отбирать при таком состоянии почвы, чтобы она не мазалась и не прилипала к лопате.

Смешанную пробу почвы, отобранную с участка, пересыпают в чистый пронумерованный почвенный мешочек или полиэтиленовый пакет. Сверху кладут фанерную или картонную этикетку, подписанную простым карандашом с указанием наименования места отбора образца (хозяйство, опытная станция), названия опыта, номера или наименования варианта, глубины отбора образца, даты его отбора, типа почвы, культуры севооборота.

Аналогичную запись делают в полевом дневнике, где указывают рельеф поля, тип почвы, ориентировочную фазу развития культуры и т.д.

Составление аналитической пробы – ответственная операция, которая обеспечивает надежность полученных результатов. Небрежность и ошибки при подготовке образцов и взятии средней пробы не компенсируются последующим качественным лабораторным анализом.

При агрохимическом обследовании отбор проб с пахотных земель, почв сенокосов, пастбищ, лесных питомников производят в соответствии с ГОСТом 28168.

Основные положения этого стандарта следующие:

♦ Отбор проб проводят в течение всего вегетационного периода. На полях, участках сенокосов, пастбищ, лесных питомников, где доза внесенных минеральных удобрений по каждому виду составляла более 90 кг д. в. на 1 га, пробы отбирают спустя 2 мес. после внесения удобрений.

♦ Картографической основой для отбора проб является план землепользования хозяйства (или питомника) с нанесенными на него элементами внутрихозяйственного землеустройства (полей) и границами почвенных контуров. Масштаб картографической основы должен соответствовать масштабу почвенных карт обследуемой территории.

♦ После рекогносцировочного осмотра территории, подлежащей агрохимическому обследованию, на картографическую основу наносят сетку элементарных участков установленного размера. Элементарный участок – это наименьшая площадь, которую можно охарактеризовать одной объединенной пробой почвы.

♦ Форма элементарного участка по возможности должна приближаться к прямоугольной с отношением сторон не более 1 : 2. Для лесных питомников элементарным участком является поле питомника. Каждому элементарному участку присваивают порядковый номер.

♦ Максимально допустимые размеры элементарных участков на неэродированных и слабоэродированных богарных и орошаемых пахотных почвах должны быть не более указанных в таблице ГОСТа 28168 (сокращенный вариант которой представлен в таблице 5).

5. Максимально допустимые размеры элементарных участков при отборе проб почв в Российской Федерации, га

Республики и экономические районы	Размеры элементарных участков, га			
	при ежегодном уровне применения фосфорных удобрений (кг д. в. на 1 га)			на орошаемых землях
	менее 60	60 – 90	более 90	
Северный, Северо-Западный	5	4	2	2
Центральный	8	5	3	2
Волго-Вятский	15	10	4	2
Центрально-Черноземный:				
а) лесостепные районы с преобладанием серых лесных почв и черноземов оподзоленных	10	8	5	3
б) лесостепные районы с преобладанием черноземов выщелоченных и типичных	15	10	5	3
в) степные районы с преобладанием черноземов обыкновенных и южных	25	15	10	5
Поволжский: а) лесостепные районы с преобладанием серых лесных почв и черноземов выщелоченных и типичных	20	15	10	5
б) степные и сухостепные районы с преобладанием обыкновенных, южных черноземов и каштановых почв	40	20	15	5
Северо-Кавказский:				
а) степные равнинные районы с преобладанием черноземов	20	15	10	5
б) сухостепные равнинные районы с преобладанием каштановых почв	40	25	10	5
в) предгорные районы с преобладанием черноземов	10	5	3	2
Уральский: а) таежно-лесные районы с преобладанием дерново-подзолистых почв	8	5	4	3
б) лесостепные и степные районы	15	10	5	3
Западно- и Восточно-Сибирский:				
а) таежно-лесные районы с преобладанием дерново-подзолистых почв	10	5	3	—
б) лесостепные и степные районы со слаборасчлененным рельефом	20	15	5	3
в) степные районы с равнинным рельефом	40	25	10	3
Дальневосточный	10	5	4	2

♦ На средне- и сильноэродированных дерново-подзолистых и серых лесных почвах размер элементарного участка должен составлять 1 – 2 га, на черноземах и каштановых почвах – 3 га. На долговременных культурных пастбищах размер элементарного участка соответствует площади загона. На улучшенных сенокосах и пастбищах размер элементарного участка соответствует площади элементарного участка пашни, принятого для каждой зоны. Размер элементарного участка в лесных питомниках равен площади поля питомника.

Перед непосредственным отбором проб на богарных землях наносят сетку элементарных участков путем сплошного наложения на все сельскохозяйственные угодья, подлежащие агрохимическому обследованию. На орошаемых землях при открытой осушительной сети элементарные участки располагают между дренами. На участках закрытого дренажа элементарные участки располагают длинной стороной поперек междренья. На орошаемых землях хлопкосеющих и рисосеющих районов элементарные участки располагают по всей ширине поливной карты.

На картографической основе в пределах каждого выделенного элементарного участка прокладывают маршрутный ход. На неэродированных и слабоэродированных почвах маршрутный ход прокладывают посередине элементарного участка вдоль его длинной стороны. На средне- и сильноэродированных почвах, расположенных на склоне длиннее 200 м, маршрутные ходы прокладывают вдоль склона, на более коротких – поперек склона. На полях лесных питомников маршрутные ходы прокладывают по диагонали поля.

Отбор проб в соответствии с ГОСТом 28168 производят следующим образом:

1. Территорию, предназначенную для обследования, разбивают на элементарные участки в соответствии с сеткой элементарных участков и определяют расстояние между точечными пробами.
2. Точечные пробы отбирают буром. На уплотненных почвах допускается отбор точечных проб лопатой.
3. Точечные пробы не допускается отбирать вблизи дорог, куч органических и минеральных удобрений, мелиорантов, со дна развальных борозд, на участках, резко отличающихся лучшим или худшим состоянием растений.
4. В пределах каждого элементарного участка точечные пробы отбирают равномерно по маршрутному ходу через равные интервалы. В лесных питомниках – на полях, занятых сеянцами и саженцами, точечные пробы отбирают на грядках между посевными строчками или рядами посадки саженцев.
5. На пахотных почвах точечные пробы отбирают на глубину пахотного слоя, на сенокосах и пастбищах – на глубину гумусо-аккумулятивного горизонта, но не глубже 10 см.

6. Из точечных проб, отобранных с элементарного участка, составляют объединенную пробу.
7. Если в пределах элементарного участка располагается несколько почвенных контуров, то объединенные пробы отбирают с преобладающего контура.
8. В зависимости от пестроты агрохимических показателей почв, выявленной по результатам предыдущего агрохимического обследования, каждую объединенную пробу составляют из 20 – 40 точечных.
9. Масса объединенной пробы должна быть не менее 400 г.
10. Отобранные объединенные пробы вместе с этикеткой помещают в мешочки или коробки.
11. На этикетке объединенной пробы указывают: 1) наименование организации, проводящей обследование; 2) область; 3) район; 4) хозяйство; 5) номер объединенной пробы; 6) дату отбора пробы; 7) фамилию исполнителя; 8) обозначение настоящего стандарта.
12. Номер объединенной пробы должен соответствовать номеру элементарного участка или номеру поля питомника.
13. Отобранные в течение дня объединенные пробы подсушивают в раскрытых мешочках или коробках в сухом проветриваемом помещении.
14. После завершения отбора объединенных проб в хозяйстве составляют сопроводительную ведомость в двух экземплярах (рис. 18) и отправляют на анализ. Один экземпляр ведомости прилагают к пробам, второй остается у специалиста, проводящего агрохимическое обследование.

СОПРОВОДИТЕЛЬНАЯ ВЕДОМОСТЬ ОТБОРА ПОЧВЕННЫХ ПРОБ

Почвенные пробы в количестве _____ штук отобраны

_____

_____ в период с _____
наименование хозяйства

по_____ почвоведом-агрохимиком _____

Дата отправки проб _____

№ п/п.	Вид тары (перечисляется каждый ящик и мешок)	Число проб	Номера проб	Примечание

Обозначение настоящего стандарта

Личная подпись Расшифровка подписи

Рис. 18. Сопроводительная ведомость отбора почвенных проб по ГОСТу 28168

Аппаратура и материалы

1. Буры тростьевые БП-25–15 или аналогичные буры, обладающие такими же метрологическими характеристиками.
2. Лопаты штыковые.
3. Мешочки полотняные, пакетные полиэтиленовые или бумажные, коробки картонные.
4. Этикетки.
5. Основа картографическая.

Подготовка почвы к агрохимическому анализу

Образцы почвы, отобранные в поле или в вегетационном домике, предварительно подсушивают на воздухе при комнатной температуре. Хранение сырых образцов ведет к значительным изменениям их свойств и состава, особенно в результате ферментативных и микробиологических процессов. Напротив, температурный перегрев сопровождается изменением подвижности и растворимости многих соединений.

Если образцов много, то проводится сушка в шкафах с принудительной вентиляцией при температуре не выше 40°С.

Определение нитратов, нитритов, поглощённого аммония, водорастворимых форм калия, фосфора и т.п. проводится в день взятия образцов при их естественной влажности. Влажную почву просеивают через сито с диаметром отверстий 3 мм. Остальные определения проводятся в воздушно-сухих образцах.

Необходимо помнить, что ошибка представительности образца возрастает с ростом размера частиц и с уменьшением массы навески. Высокая степень измельчения почвы требуется, когда анализируемая навеска мала. Например, гумус определяют в навесках, масса которых составляет десятые доли грамма. Это связано с условиями проведения анализа. В то же время для определения обменной и гидролитической кислотности используют навески, масса которых составляет десятки граммов. Поэтому при определении гумуса аналитическую почвенную пробу принято измельчать таким образом, чтобы диаметр частиц не превышал 0,25 мм. А размер почвенных частиц в аналитической пробе для определения кислотности может быть большим, но не должен превышать 1 – 2 мм (Воробьева, 1998).

Прежде чем приступить к измельчению сухой почвы, из средней лабораторной пробы отбирают пробу почвы для определения углерода и азота. Образец почвы расстилают на бумаге ровным слоем толщиной 5 мм. Крупные частицы измельчают. Затем делят на квадраты со стороной 3 – 4 см. Из каждого квадрата на всю глубину слоя шпателем отбирают небольшие количества почвы и помещают в отдельный пакет из кальки. Масса этой пробы должна быть не менее 10 г. Затем из отобранной пробы почвы удаляют корни и различные органические остатки – их отбирают пинцетом, просматривая почву через увеличительное стекло. Наиболее мелкие частицы органики можно удалить при

помощи стеклянной или эбонитовой палочки, натертой куском шерстяной ткани. Наэлектризованной палочкой проводят на расстоянии нескольких сантиметров от слоя почвы. При этом мелкие органические остатки прилипают к ней и удаляются из почвы. Палочку нельзя подносить очень близко к почве, так как при этом к ней могут пристать частицы почвы.

Затем почву измельчают и просеивают через сито с диаметром отверстий 0,25 мм. Операцию измельчения проводят до тех пор, пока весь образец не пройдет через сито.

Подготовленный таким образом образец хранят до проведения анализа в пакетиках из кальки.

Оставшуюся часть сухого образца измельчают на почвенной мельнице или растирают в фарфоровой ступке пестиком с резиновым наконечником. Растертый и просушенный образец пропускают через сито с диаметром отверстий 1 – 2 мм. Растирание и просеивание проводят до тех пор, пока весь взятый образец не пройдет через сито. Допускается отброс только обломков камней, крупных корней и инородных включений. Образцы хранятся в закрытых крафтовых пакетах в помещении, где отсутствуют химические реактивы.

Навеску почвы для анализа берут методом «средней пробы». Для этого просеянный образец рассыпают тонким слоем (около 0,5 см) на листе бумаги в виде квадрата и делят его шпателем на мелкие квадратики со стороной 2 – 2,5 см. Из каждого квадратика шпателем отбирают часть образца.

Определение влажности почвы

Метод основан на испарении воды, поглощенной почвой (гигроскопическая влага), при нагревании навески почвы до температуры 105° С. Высушивание почвы при более высокой температуре может привести к обугливанию органических веществ и потере их веса одновременно с испарением влаги, что приведет к ошибке анализа.

Ход анализа

Чистые стеклянные бюксы или металлические стаканчики с крышками пронумеровать простым карандашом, высушить в термостате до постоянного веса при температуре 105°С.

В доведенный до постоянного веса бюкс взять навеску средней пробы образца весом 5 г. Поставить бюксы в термостат и сушить при температуре 100 – 105°С в течение 5 часов. Перенести бюксы в эксикатор. После охлаждения провести взвешивание.

Затем поставить бюксы в термостат и сушить при тех же условиях в течение 1,5 – 3 часов. После охлаждения в эксикаторе взвесить. Операцию повторяют до тех пор, пока бюкс не будет доведен до постоянного веса (масса должна быть равна или больше предыдущего взвешивания).

Если последний вес больше предыдущего, что может произойти в результате окисления органического вещества, для расчета нужно взять меньший вес.

Расчет влажности *(W)* ведется в процентах на 100 г абсолютно сухой почвы: $W = a \cdot 100 : б$,

где *а* – масса воды; *б* – масса абсолютно сухой почвы;

$$а = в - с,$$

где *в* – масса бюкса с сырой навеской (г), *с* – масса бюкса с почвой после высушивания; $б = с - д$,

где *д* – масса бюкса, г.

Можно при этом рассчитать и процент абсолютно сухой почвы (*Y*):

$$Y = б \cdot 100 : н,$$

где *б* - масса абсолютно сухой почвы, *н* - навеска почвы, г.

Для пересчета данных анализов сырой навески на абсолютно сухую почву определяется коэффициент влажности К из отношения массы сырой почвы к массе абсолютно сухой.

Например, влажность почвы составила 7,8 %, тогда

$$К = 100 + 7{,}8 : 100 = 107{,}8 : 100 = 1{,}08$$

В данных расчетах влага составляет не долю от веса исходного вещества, а количество воды, поглощенной 100 г абсолютно сухой почвы. На полученный коэффициент следует умножить все результаты анализов, проведенных с данной пробой.

КИСЛОТНОСТЬ ПОЧВ

Определение реакции почв относится к числу наиболее распространенных анализов как в теоретических, так и в прикладных исследованиях.

Наиболее полная картина кислотных и основных свойств почв складывается при одновременном измерении нескольких показателей, в том числе титруемой кислотности или щелочности – фактор емкости и величины pH – фактор интенсивности.

Фактор емкости в данном случае характеризует общее содержание кислот или оснований в почвах, от него зависят буферность почв, устойчивость реакции во времени и по отношению к внешним воздействиям.

Фактор интенсивности характеризует силу мгновенного действия кислот или оснований на почву и растения; от него зависит поступление минеральных веществ в растения в данный отрезок времени (Орлов, 1985). Это позволяет дать наиболее правильную оценку кислотности почв, так как в этом случае учитывается общее количество ионов водорода и алюминия, находящихся в почве в свободном и поглощённом состояниях.

Различают следующие формы почвенной кислотности: актуальную и потенциальную, которая в свою очередь подразделяется на обменную и гидролитическую. Под актуальной кислотностью понимают активную концентрацию ионов водорода в почвенном растворе или в водной вытяжке из почвы (pH), определяется потенциометрически. Потенциальная кислотность определяется количеством ионов водорода, находящихся в почвенном поглощающем комплексе. При известных условия эти ионы могут быть переведены в раствор: более подвижная часть ионов водорода (и Al) почвы может быть переведена в раствор при обработке почвы избытком нейтральных солей (KCl).

$$[ППК]\begin{matrix}/2\,H^+\\ \backslash 2\,H^+\end{matrix} + 4\,KCl = [ППК]\begin{matrix}/2\,K^+\\ \backslash 2\,K^+\end{matrix} + 4\,HCl$$

По количеству образовавшейся свободной соляной кислоты судят об обменной кислотности почвы. Часть ионов водорода остаётся в поглощённом состоянии, так как образующаяся в результате реакции сильная соляная кислота полностью диссоциирует и избыток свободных ионов водорода в растворе препятствует их полному вытеснению из ППК.

Менее подвижная часть ионов водорода может быть переведена в раствор лишь при дальнейшей обработке почвы растворами гидролитически щелочных солей (CH_3COONa).

$$[ППК]\begin{matrix}/H^+\\ /H^+\\ \backslash H^+\\ \backslash H^+\end{matrix} + 3\,CH_3COONa \Leftrightarrow [ППК]\begin{matrix}/Na^+\\ /Na^+\\ \backslash Na^+\\ \backslash H^+\end{matrix} + 3\,CH_3COOH$$

По количеству образовавшейся свободной уксусной кислоты судят о гидролитической кислотности почв. Ионы водорода в данном случае наиболее полно переходят в раствор (вытесняются из ППК), так как образующаяся уксусная кислота прочно связывает водородные ионы и реакция смещается вправо вплоть до полного вытеснения ионов водорода из ППК. Величина гидролитической кислотности равна разности между результатами, полученными при обработке почвы CH_3COONa и KCl. На практике за величину гидролитической кислотности принимают результат, полученный при обработке почвы CH_3COONa.

Необходимо знать, что кислотность почвы обуславливается ионами не только водорода, но и алюминия:

$$[ППК]\begin{matrix}/Al^{3+}\\ \backslash Al^{3+}\end{matrix} + 6\,KCl = [ППК]\begin{matrix}/3\,K^+\\ \backslash 3\,K^+\end{matrix} + 2\,AlCl_3$$

Гидроокись алюминия выпадает в осадок, и система практически ничем не отличается от той, в которой содержатся только поглощённые ионы водорода. Но если даже $AlCl_3$ останется в растворе, то при титровании: $AlCl_3 + 3\ NaOH = Al(OH)_3 + 3\ NaCl$

что равноценно реакции: $3\ HCl + 3\ NaOH = 3\ NaCl + 3\ H_2O$.

Поглощённые ионы алюминия вытесняются и при обработке почвы раствором CH_3COONa. В этом случае весь вытесненный алюминий переходит в осадок в виде гидроокиси (Аскинази, 1975).

По степени кислотности, определяемой в солевой вытяжке 0,1 н. *KCl* потенциометрически, почвы делятся на:

очень сильно кислые	pH менее 4,0
сильно кислые	4,1 – 4,5
средне кислые	4,6 – 5,0
слабо кислые	5,1 – 5,5
близкие к нейтральным	5,6 – 6,0
нейтральные	pH более 6,0

Растения проявляют различную чувствительность к кислой и щелочной среде. Депрессия ростовых процессов наблюдается при pH ниже 5 и выше 8. Оптимальное pH почвы для льна, ржи, люпина, картофеля, гречихи 5,5; для клевера, гороха, кукурузы, пшеницы 6,0 – 7,0. Негативное влияние кислотности особенно опасно в начальный период вегетации. Повышенная кислотность или щелочность нарушает физиологическое равновесие в почвенном растворе, ухудшает питание растений, дестабилизирует белковый, углеводный и фосфорный обмен.

Реакция почвенного раствора оказывает на растение прямое и косвенное влияние. Повышение концентрации водородных ионов в ризосфере снижает поступление в растение всех наиболее важных катионов и анионов: кальция, калия, магния, молибдена, фосфатов; увеличивает поглощение из почвенного раствора алюминия, марганца – токсичных для растений, а также активизирует гидролитические ферменты в корневой системе.

Косвенное влияние кислотности в питании растений связано с изменением подвижности ряда элементов в почвенном растворе. В щелочной среде снижается подвижность бора, цинка, меди, алюминия, марганца, возрастает подвижность молибдена и фосфатов.

Внесение в почву минеральных, органических удобрений и известковых материалов с учётом особенностей высеваемой культуры обеспечивает физиологическую уравновешенность почвенного раствора. Оптимизация условий питания осуществляется за счёт использования различных форм, доз и сроков внесения удобрений.

Определение актуальной кислотности

Эта форма кислотности обусловлена содержанием свободных ионов водорода в почвенном растворе и измеряется по величине pH водной вытяжки из почвы. Этот вид кислотности непосредственно действует на корневую систему растений и на почвенные микроорганизмы.

Определение актуальной кислотности почвы необходимо для выяснения возможности воздействия на почву разных форм, доз и сочетаний удобрений, а также подбора культур в севооборотах. Однако pH водной вытяжки – величина неустойчивая, часто изменяющаяся под действием разных факторов в течение даже одного вегетационного периода.

Ход анализа.

На технических весах взять навеску почвы массой 20 г и поместить в колбу на 200 – 250 $см^3$. Прилить цилиндром 50 $см^3$ дистиллированной воды.

Взбалтывать на ротаторе в течение 1 ч. В суспензии или фильтрате определить значение pH электрометрическим методом.

Определение pH солевой вытяжки по методу ЦИНАО (ГОСТ 26483)

Сущность метода заключается в извлечении обменных катионов из почвы раствором хлористого калия концентрации 1 моль/$дм^3$ (1 н.) при соотношении почвы и раствора 1 : 2,5 и потенциометрическом определении pH с использованием стеклянного электрода.

При определении pH в пробах органических горизонтов почв вытяжку готовят при соотношении почвы и раствора 1 : 25.

Ход анализа

Приготовление вытяжки (ГОСТ 26483)

Пробу почвы (в воздушно-сухом состоянии, пропущенной через сито с диаметром отверстий 1 – 2 мм) массой 30 г взвешивают на технических весах с погрешностью не более 0,1 г и пересыпают в коническую колбу. К пробам дозатором или цилиндром приливают 75 $см^3$ экстрагирующего раствора (KCl 1 н.). Одновременно проводят холостой опыт без пробы почвы. Почвы с раствором перемешивают в течение 1 мин.

При определении pH в пробах органических горизонтов почв отбирают навеску массой 4 г, прибавляют к ней 100 $см^3$ экстрагирующего раствора и перемешивают суспензию в течение 3 мин.

После проведения настройки pH-метра или иономера по трем буферным растворам с pH 4,01, 6,86 и 9,18 электроды погружают в суспензию и измеряют величину pH. Показания прибора считывают не ранее чем через 1 мин после погружения электродов в суспензию. Во

время работы настройку прибора периодически проверяют по буферному раствору с pH 4,01.

После измерения pH суспензию оставляют на 18 – 24 ч, затем перемешивают на электромеханической мешалке в течение 1 мин и фильтруют через бумажные фильтры. Первую мутную порцию фильтрата объемом 10 – 15 $см^3$ отбрасывают. Допускается вместо настаивания проб почв с раствором хлористого калия проводить перемешивание суспензий на встряхивателе или ротаторе в течение 1 ч.

Фильтраты используются для последующего анализа (определение обменной кислотности, обменного алюминия, а также нитратов, обменного аммония, подвижной серы, обменного марганца, обменного кальция и обменного (подвижного) магния по методам ЦИНАО).

За результат анализа принимают значение единичного определения pH со шкалы прибора с точностью не ниже 0,1 единицы pH. Допускаемые отклонения от среднего арифметического результатов повторных анализов при выборочном статистическом контроле при вероятности $P = 0,95$ составляют 0,2 единицы pH.

Реактивы.

1. Экстрагирующий раствор – раствор калия хлористого концентрации *с (KCl)* = 1 моль/$дм^3$ (1 н.) (pH 5.6 – 6.0). Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

2. Буферные растворы для настройки pH-метра готовят из стандарт-титров 2-го разряда по ГОСТу 8.135.

Определение обменной кислотности по методу ЦИНАО (ГОСТ 26484)

Сущность метода заключается в извлечении обменных катионов водорода и алюминия из почвы раствором хлористого калия концентрации 1 моль/$дм^3$ при соотношении почвы и раствора 1 : 2,5 и последующем потенциометрическом титровании фильтрата гидроокисью натрия до pH 8,2.

Ход анализа

В химический стакан отбирают 25 $см^3$ фильтрата вытяжки, приготовленной по ГОСТу 26483. Стакан помещают на магнитную мешалку. В раствор погружают электродную пару. Бюретку заполняют раствором гидроокиси натрия концентрации 0,1 моль/$дм^3$. На блоке автоматического титрования устанавливают значение эквивалентной точки, равной 8,2 pH, и время выдержки, равное 30 с. Включают блок автоматического титрования, магнитную мешалку и открывают кран бюретки. По окончании титрования определяют расход NaOH по бюретке.

Аналогично проводят титрование 25 $см^3$ фильтрата холостого опыта.

При отсутствии блока автоматического титрования анализируемые пробы титруют вручную, контролируя pH с помощью pH-метра или индикатора – 1%-го раствора фенолфталеина, до появления слабо розовой окраски, не исчезающей в течение 1 мин.

Расчет

Обменную кислотность (*X*) в миллимолях в 100 г почвы вычисляют по формуле:

$$X = \frac{(V - V_0) \cdot c}{250 \cdot V_1},$$

где V – объем раствора NaOH, израсходованный на титрование пробы вытяжки, $см^3$; V_0 – объем раствора NaOH, израсходованный на титрование пробы холостого опыта, $см^3$; V_1 – объем пробы вытяжки, взятый для титрования, $см^3$; c – концентрация раствора NaOH, ммоль/$см^3$; *250* – коэффициент пересчета на 100 г почвы, $см^2$.

Результаты анализа выражают в миллимолях в 100 г почвы с округлением до второго десятичного знака.

Допускаемые относительные отклонения от среднего арифметического результатов повторных анализов при выборочном статистическом контроле при вероятности P = 0,95 составляют 35 % при обменной кислотности до 0,1 ммоль в 100 г почвы, 15 % - св. 0,1 до 0,5 ммоль в 100 г почвы, 10 % - св. 0,5 ммоль в 100 г почвы.

Реактивы.

1. Гидроокись натрия (ГОСТ 4328. «х.ч.» или «ч.д.а.») концентрации 0.1 моль/$дм^3$.
2. Фенолфталеин. индикатор (ГОСТ 5850 «ч.д.а.»). раствор массовой концентрации 10 г/$дм^3$.
3. Дистиллированная вода (ГОСТ 6709).

Определение pH, обменной кислотности и подвижного алюминия по Соколову

Определение обменной кислотности основано на вытеснении из ППК ионов водорода и алюминия 1,0 н. раствором *KCl*:

$$[ППК]\begin{matrix}/H^+\\ \backslash Al^{3+}\end{matrix} + 4\,KCl \rightarrow [ППК]\begin{matrix}/K^+\\ \backslash 3\,K^+\end{matrix} + AlCl_3 + HCl,$$

$$AlCl_3 + 3\,H_2O \rightarrow Al(OH)_3 + 3\,HCl.$$

Образовавшуюся кислоту оттитровывают щёлочью и рассчитывают величину обменной кислотности, обусловленную суммой ионов водорода и алюминия.

Алюминий осаждают 3,5 %-м раствором фтористого натрия. В осадке образуется комплексная нейтральная соль – криолит:

$$AlCl_3 + 6\,NaF = Na_3AlF_6 + 3\,NaCl.$$

Повторное титрование раствора позволяет определить кислотность, обусловленную только ионами водорода. По разности данных первого и второго титрования проводят расчёт содержания алюминия в почве.

Ход анализа

На технических весах берут навеску массой 40 г воздушно-сухой почвы методом средней пробы. Переносят навеску в коническую колбу ёмкостью 150-300 см^3. Приливают из бюретки 100 см^3 1,0 н. *KCl* (pH 5,6 – 6,0). Взбалтывают на ротаторе 1 ч или взбалтывают 15 мин и оставляют на ночь.

Отфильтровывают через воронку с сухим бумажным складчатым фильтром, отбросив первую порцию фильтрата. В фильтрате определяют значение pH потенциометрически.

Для определения обменной кислотности берут пипеткой 25 см^3 фильтрата в колбу Эрленмейера объёмом 100 см^3. На горелке или электроплитке кипятят фильтрат 5 мин. по песочным часам для удаления углекислого газа. Прибавляют в фильтрат 2 капли фенолфталеина и оттитровывают горячий раствор 0,01 или 0,02 н. раствором щёлочи (KOH или NaOH) до устойчивой розовой окраски – первое титрование.

В другую колбу Эрленмейера берут пипеткой также 25 см^3 фильтрата, кипятят 5 мин., охлаждают в водяной бане до комнатной температуры. В охлаждённый фильтрат приливают пипеткой 1,5 см^3 3,5%-го раствора фтористого натрия, перемешивают. Прибавляют две капли фенолфталеина и оттитровывают 0,01 или 0,02 н. раствором щёлочи до слабо-розовой окраски – второе титрование.

Расчёт

1. *Обменная кислотность*, обусловленная ионами водорода и алюминия (по результатам 1-го титрования) в мг·экв на 100 г сухой почвы.

$$H_{обм.} = \frac{(V_{KOH} \cdot н._{KOH}) \cdot P \cdot 100 \cdot K}{H},$$

где: P – разведение 100/25=4, H – навеска почвы в граммах, K – коэффициент влажности почвы, V_{KOH} – количество щёлочи, пошедшее на титрование, $н._{KOH}$ – нормальность щёлочи.

2. Расчёт *кислотности, обусловленной ионами водорода* тот же, но по результатам второго титрования, после осаждения алюминия.

3. Расчёт *содержания алюминия (ионов)* по разности пнрвого и второго определений *(H + Al^{3+}) мг·экв - H мг·экв =Al^{3+} мг·экв/100 г почвы*, умножив полученное значение на 9 (эквивалентный вес алюминия), определяем количество алюминия в мг на 100 г почвы.

♦ *При определении этих показателей во влажной почве одновременно определяют процент влажности и рассчитывают коэффициент влажности К.*

Пример расчета

Первое титрование: на титрование 25 см^3 фильтрата пошло 5 см^3 0.01 н раствора щелочи $H_{обм} = (5 \cdot 0{,}01) \cdot 4 \cdot 100 : 40 = 0{,}5$ мг·экв/100 г почвы.

Второе титрование: на титрование 25 см^3 фильтрата пошло 2 см^3 0.01 н. раствора щелочи $H_{обм} = (2 \cdot 0{,}01) \cdot 4 \cdot 100 : 40 = 0.2$ мг·экв /100 г почвы.

Расчет содержания алюминия: $Al = (0.5 - 0.2) \cdot 9 = 2.7$ мг /100 г почвы.

Форма записи

№	Навеска почвы, г	pH	K	Обменная кислотность (H+Al)			H^+			Al мг / 100 г почвы
				щелочь		мг·экв / 100 г почвы	щелочь		мг·экв / 100 г почвы	
				н.	см^3		н.	см^3		
1	40	4,8	-	0,01	5	0,5	0,01	2	0,2	2,7

Реактивы

1. Раствор 1 н. *KCl*. Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

2. 0,01 или 0,02 н. раствор *KOH* или *NaOH* готовится из навески реактива или фиксанала.

3. 3,5%-й раствор фтористого натрия, приготовленный на дистиллированной воде без CO_2 (кипятить дистиллированную воду, упаривая до 1/3 первоначального объёма).

Определение обменного (подвижного) алюминия по методу ЦИНАО (ГОСТ 26485)

Сущность метода заключается в извлечении обменного алюминия из почвы раствором хлористого калия, получении окрашенного комплекса алюминия с хромазуролом С или ксиленоловым оранжевым в слабокислой среде и последующем фотоколориметрировании окрашенного раствора. Влияние железа предотвращается восстановлением его до двухвалентного состояния аскорбиновой кислотой.

Ход анализа

Определение алюминия с хромазуролом С.

В конические колбы отбирают по 1 см^3 фильтратов вытяжек, приготовленных по ГОСТ 26483 (с. 67) и растворов сравнения.

К пробам приливают по 25 см^3 раствора аскорбиновой кислоты с массовой концентрацией 0,2 г/дм^3 и перемешивают. Затем приливают 25 см^3 рабочего окрашивающего раствора с хромазуролом С и снова перемешивают. Окрашенные растворы не ранее чем через 10 мин и не позднее чем через 30 мин после прибавления окрашивающего раствора фотометрируют относительно раствора сравнения N_1 в кювете с толщиной просвечиваемого слоя 1 см при длине волны 545 нм или используя светофильтр с максимумом пропускания в области 535 – 555 нм.

Определение алюминия с ксиленоловым оранжевым

В конические колбы отбирают по 2 $см^3$ фильтратов вытяжек и растворов сравнения. К пробам приливают по 15 $см^3$ раствора аскорбиновой кислоты с массовой концентрацией 0,2 $г/дм^3$ и перемешивают. Затем прибавляют по 15 $см^3$ окрашивающего раствора с ксиленоловым оранжевым и снова перемешивают.

Окрашенные растворы не ранее чем через 2 часа после прибавления окрашивающего раствора фотометрируют так, как описано выше (с хромазуролом С).

Количество эквивалентов алюминия в анализируемой почве находят непосредственно по градуировочному графику и вычитают из него результат холостого опыта. Если результат определения выходит за пределы градуировочного графика, определение повторяют, предварительно разбавив фильтрат раствором хлористого калия концентрации 1 $моль/дм^3$. Результат, найденный по графику, увеличивают во столько раз, во сколько был разбавлен фильтрат.

Результат анализа выражают в миллимолях в 100 г почвы с округлением до второго десятичного знака.

Допускаемые относительные отклонения от среднего арифметического результатов повторных анализов при выборочном статистическом контроле при вероятности $P = 0,95$ составляют 40% для количества алюминия до 0,12 ммоль и 10 % – св. 0,12 ммоль в 100 г почвы.

Реактивы

1. Раствор аскорбиновой кислоты массовой концентрации 0,2 $г/дм^3$. Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

2. *Запасной окрашивающий раствор* с хромазуролом С. Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

3. *Рабочий окрашивающий раствор* готовят путем смешивания 8 объемов запасного окрашивающего раствора с 92 объемами дистиллированной воды. Раствор готовят в день проведения анализа.

4. Запасной раствор с ксиленоловым оранжевым. Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ. Раствор хранят в склянке с притертой пробкой не более 1 мес.

5. *Рабочий раствор окрашивающего раствора* готовят путем смешивания 1 объема запасного окрашивающего раствора с 4 объемами дистиллированной воды. Раствор готовят в день проведения анализа.

6. *Раствор алюминия концентрации с (1 3 Al^{3+}) = 0,26 ммоль $см^3$.* Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ. Раствор хранят в склянке с притертой пробкой не более 1 года.

7. *Раствор алюминия концентрации с (1/3 Al^{3+}) = 0,025 ммоль $см^3$* : 25 $см^3$ раствора алюминия концентрации 0.25 $ммоль/см^3$ помещают в мерную колбу вместимостью 250 $см^3$. раствором хлористого калия концентрации 1 $моль/дм^3$ доводят объем до метки и тщательно перемешивают.
Раствор хранят в склянке с притертой пробкой не более 3 мес.

8. Растворы сравнения для построения градуировочного графика: в мерные колбы вместимостью 250 $см^3$ помещают указанные ниже объемы раствора алюминия концентрации 0,025 ммоль/$см^3$. Объемы растворов в колбах доводят до метки раствором хлористого калия концентрации 1 моль/$дм^3$.

Характеристика раствора	Номера растворов сравнения							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Объем раствора Al концентрации 0,025 ммоль/$см^3$	0	2	4	8	12	16	20	24
Концентрация алюминия: в растворе сравнения, ммоль/$см^3$	0	0,2	0,4	0,8	1,2	1,6	2,0	2,4
в пересчете на 100 г почвы, ммоль	0	0,05	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6

Растворы хранят в склянках с притертыми пробками не более 3 мес.
Растворы сравнения при градуировке фотоэлектроколориметра окрашивают аналогично окрашиванию анализируемых вытяжек и одновременно с ними.

Определение гидролитической кислотности почв по Каппену

Эта форма кислотности обусловлена ионами водорода, более прочно связанными в почвенном поглощающем комплексе и способными обмениваться на основания только в нейтральной или щелочной среде. Эти ионы водорода труднее замещаются на основания и вытесняются в раствор только гидролитически щелочными солями. В качестве гидролитически щелочной соли применяется уксуснокислый натрий, который в водном растворе образует слабо диссоциирующую уксусную кислоту и сильное основание – pH раствора 8,2.

$$CH_3COONa + H_2O = CH_3COOH + NaOH$$

$$[ППК]\begin{matrix}/\,H^+\\ \backslash\,H^+\end{matrix} + 2\,NaOH = [ППК]\begin{matrix}/\,Na^+\\ \backslash\,Na^+\end{matrix} + H_2O$$

$$[ППК]\begin{matrix}/\,H^+\\ /\,H^+\\ \backslash\,H^+\end{matrix} + 3\,CH_3COONa = [ППК]\begin{matrix}/\,Na^+\\ /\,Na^+\\ \backslash\,Na^+\end{matrix} + 3\,CH_3COOH$$

Гидролитически щелочная соль взаимодействует как с ППК, так и с почвенным раствором, таким образом, в данном случае определяется общая кислотность почвы, которая включает актуальную и потенциальную кислотность, как обменную, так и собственно гидролитическую. Гидролитическую кислотность выражают в миллиграмм-эквивалентах на 100 г почвы. Установлено, что таким путём вытесняется не весь водород, поэтому при расчёте вводят коэффициент $П = 1,75$ – поправка на полноту вытеснения водорода. Величина гидролитической кислотности используется для расчёта дозы извести при известковании кислых почв.

Ход анализа

На технических весах берут 40 г воздушно-сухой почвы. Переносят навеску в колбу ёмкостью 250 – 300 см^3. Приливают из бюретки 100 см^3 1,0 н. раствора уксуснокислого натрия (pH 8,0 – 8,2). Взбалтывают на ротаторе 1 час или взбалтывают 15 мин. и оставляют на ночь.

Отфильтровывают через воронку с бумажным складчатым фильтром, отбросив первые порции фильтрата. 50 см^3 фильтрата переносят пипеткой в колбу Эрленмейера объёмом 100 см^3.

Приливают 2 – 3 капли фенолфталеина и оттитровывают образующуюся кислоту 0,1 н. раствором щёлочи до устойчивой слабо-розовой окраски.

Расчёт

$$H_г, мг{\cdot}экв/100г\ почвы = \frac{(V_{КОН} \cdot н._{КОН}) \cdot P \cdot 100 \cdot K \cdot 1{,}75}{H},$$

где P – разведение (100/50 = 2), H – навеска почвы в граммах, $V_{КОН}$ – количество щёлочи, пошедшее на титрование, $н._{КОН}$ – нормальность щёлочи, *1,75* – коэффициент на полноту вытеснения ионов водорода из ППК (вычислен из расчета доведения pH почвы до 7,0), H – навеска почвы (г), K – коэффициент влажности почвы.

♦ *При определении этих показателей во влажной почве одновременно определяют процент влажности и рассчитывают коэффициент влажности К.*

Пример расчета. На титрование 50 см^3 фильтрата пошло 1,0 см^3 0,1205 н. раствора щелочи. $H_г$ = (1,0 0,1205) 2 100 1,75 : 40 = 1,05 мг экв /100 г почвы.

Форма записи

№ образца	Навеска почвы, г	Разведение	*КОН*		$H_г$, мг·экв/100 г почвы
			н.	см^3	
1	40	2	0,1205	1,0	1,05

Реактивы

1. Раствор натрия уксуснокислого 1,0 н. Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ. Раствор готовится непосредственно перед проведением анализа.
2. 0,1 н. раствор *КОН* или *NaOH*, готовится из фиксанала.
3. Фенолфталеин 1%-й спиртовой раствор. готовится на этанол-ректификате.

Определение гидролитической кислотности по методу Каппена в модификации ЦИНАО (ГОСТ 26212)

Метод основан на обработке почвы раствором уксуснокислого натрия концентрации 1 моль/дм^3 при отношении почвы к раствору 1:2,5 для минеральных и 1:150 для торфяных и других органических горизонтов почв и пород и последующем определении гидролитической кислотности по значению pH суспензий.

Ход анализа

Пробы почвы массой 30,0 (± 0,1) г помещают в конические колбы. К пробам приливают по 75 $см^3$ раствора уксуснокислого натрия концентрации 1 моль/$дм^3$. Почву с раствором перемешивают в течение 1 мин и оставляют на 18 – 20 ч. Перед измерением pH суспензии перемешивают в течение 1 мин.

При анализе торфяных и органических горизонтов почв пробы почвы массой 1,00 (± 0,01 г) помещают в конические колбы и приливают к ним по 150 $см^3$ раствора уксуснокислого натрия концентрации 1 моль/$дм^3$. Почву с раствором взбалтывают в течение 5 мин и оставляют на 18 – 20 ч. Перед измерением pH суспензии встряхивают 2 – 3 раза вручную.

6. Гидролитическая кислотность, ммоль в 100 г почвы (для проб минеральных горизонтов)

pH суспензии	Гидролитическая кислотность, ммоль на 100 г почвы при pH (сотые доли)									
	0	**0,01**	**0,02**	**0,03**	**0,04**	**0,05**	**0,06**	**0,07**	**0,08**	**0,09**
6	17,3	16,9	16,6	16,2	15,8	15,5	15,2	14.9	14,5	14,2
6,1	13,9	13,6	13,3	13,1	12,8	12,5	12,2	12	11,7	11.5
6,2	11,2	11	11	10,8	10,5	10,3	10,1	9,84	9,64	9,23
6,3	9,04	8,83	8,65	8,45	8,28	8,11	7,92	7,76	7,59	7,41
6,4	7,28	7,11	6,97	6,81	6,69	6,53	6,38	6,25	6,11	5,98
6,5	5,85	5,73	5,61	5,48	5,37	5,25	5,14	5,03	4,92	4,82
6,6	4,71	4,61	4,52	4,42	4,32	4,23	4,14	4,05	3,96	3,82
6,7	3.79	3,71	3,63	3,56	3,48	3,4	3,33	3,25	3,19	3,13
6,8	3.05	2,99	2,92	2,85	2,8	2,74	2,68	2,62	2,57	2,52
6,9	2.46	2,41	2,35	2.31	2.25	2,21	2,16	2,11	2.07	2.02
7,0	1.98	1,94	1.9	1.89	1.82	1.78	1,74	1,7	1,67	1.63
7,1	1,6	1.56	1,53	1.5	1,46	1,43	1,4	1,37	1.34	1.31
7,2	1.28	1,25	1,23	1,2	1,18	1.15	1,13	1,1	1,08	1,05
7,3	1,03	1,01	0,99	0,97	0.95	0,93	0,91	0,89	0,87	0.85
7,4	0,83	0,81	0,8	0.78	0,76	0,75	0.73	0.72	0,7	0,68
7,5	0,67	0.66	0,64	0,63	0,61	0.6	0.59	0,58	0.56	0.55
7,6	0.54	0,53	0,52	0,51	0.49	0.48	0,47	0,46	0.45	0.44
7,7	0.43	0.43	0,42	0,41	0,4	0.39	0,38	0,37	0.37	0,36
7,8	0.35	0,34	0,33	0,33	0,32	0,31	0.31	0.3	0,29	0.29
7,9	0.28	0.28	0.27	0.26	0.26	0.25	0.25	0.24	0.24	0.23
8,0	менее 0.23									

Прибор настраивают по буферным растворам с pH 4,01 и 9,18. Во время работы настройку прибора периодически проверяют по буферному раствору с pH 6,86.

При определении pH суспензий показания прибора считывают не ранее чем через 1 мин после погружения электродов. Значения pH записывают с точностью до сотых долей. Электроды водой не обмывают.

Обработка результатов

Гидролитическую кислотность анализируемых почв и пород определяют по значениям pH суспензий, пользуясь табл. 6 при анализе проб минеральных горизонтов, табл. 7 при анализе проб торфяных и других органических горизонтов почв.

Допускаемое относительное отклонение от аттестованного значения стандартного образца для двухсторонней доверительной вероятности $P = 0,95$ составляет 12%.

7. Гидролитическая кислотность, ммоль на 100 г почвы (для проб торфяных и других органических горизонтов)

pH суспензии	Гидролитическая кислотность, ммоль на 100 г почвы при pH (сотые доли)									
	0	**0,01**	**0,02**	**0,03**	**0,04**	**0,05**	**0,06**	**0,07**	**0,08**	**0,09**
6,7	145	142	138	135	132	129	127	124	121	118
6,8	116	113	110	108	105	103	101	98,7	96,5	94,4
6,9	92,3	90,2	88,2	86,3	84,4	82,5	80,6	78,8	77,1	75,4
7,0	73,7	72,1	70,5	68,9	67,4	65,9	64,4	63,3	61,6	60,2
7,1	58,8	57,5	56,3	55	53,8	52,6	51,4	50,3	49,2	48,1
7,2	47	45,9	44,9	43,9	42,9	42	41,1	40,2	39,3	38,4
7,3	37,5	35,7	35,9	35,1	34,3	33,5	32,8	32,1	31,3	30,6
7,4	29.9	29,3	28,7	28	27,4	26.8	26.2	25,6	25	24,5
7,5	23.9	23,4	22,9	22,4	21,9	21,4	20,9	20,4	20	19,5
7,6	19,1	18,7	18,3	17,9	17,5	17.1	-	-	-	-

Реактивы.

1. *Раствор натрия уксуснокислого концентрации 1 моль/дм*^{3} с pH 8,3 – 8,4. Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ. Раствор хранят не более 3 мес.

Определение суммы поглощённых оснований по Каппену-Гильковицу

Поглотительная способность почвы имеет очень большое значение для питания растений и процессов взаимодействия между почвой и вносимыми удобрениями. Поглощённые основания определяют реакцию среды и питательный режим почвы в целом. Присутствие в почвенном растворе различных солей обуславливает обменные реакции между твёрдой и жидкой фазами почвы. Из ППК могут вытесняться и обмениваться ионы кальция, магния, калия, аммония и др. Установлено, что одновалентные катионы в меньшей степени удерживаются почвой и вследствие этого доступнее растениям, чем двухвалентные. Анионы также могут участвовать в обменных реакциях. Почвы обладают различной поглотительной способностью, что учитывается при выборе доз, форм, сроков внесения удобрений.

При этом не может быть единого метода в определении суммы обменных катионов. Для кислых и слабокислых почв предлагается метод Каппена-Гильковица с применением 0,1 н. *HCl*. Принцип метода заключается в обработке почвы определённым количеством соляной кислоты точно установленной нормальности. Часть кислоты идёт на вытеснение поглощённых оснований из ППК, а оставшуюся кислоту оттитровывают щёлочью определённой нормальности.

Для карбонатных почв указанный метод не пригоден. Для карбонатных и известкованных почв пользуются методом Гедройца и Захарчука с применением в качестве вытеснителя 0,05 н. раствора *HCl*. Было показано, что такой раствор не разрушает ППК, но вытесняет обменные катионы. Для некарбонатных почв используется метод Бобко и Аскинази в модификации Алёшина, где вытеснителем является раствор хлористого бария.

Ход анализа

На технических весах берут навеску массой 20 г воздушно-сухой почвы, предварительно подготовленной к анализу. Переносят навеску в колбу ёмкостью 200 – 300 $см^3$ и приливают 100 $см^3$ 0,1 н. раствора *HCl* из бюретки. Взбалтывают на ротаторе 1 час и оставляют на сутки.

Отфильтровывают через воронку с сухим складчатым фильтром в сухую посуду, отбросив первую порцию фильтрата. Берут пипеткой 50 $см^3$ фильтрата в коническую колбу объёмом 100 $см^3$.

На газовой горелке или электроплитке с закрытой спиралью кипятят фильтрат 3 мин по песочным часам. Оттитровывают раствор в горячем состоянии, добавив 2 – 3 капли фенолфталеина, раствором 0,1 н. щёлочи до устойчивой слабо-розовой окраски, не исчезающей в течение 1 мин.

Расчёт $S \frac{мг \cdot экв}{100\ г\ почвы} = \frac{(a \cdot H._к - b \cdot H._щ) \cdot P \cdot 100 \cdot K}{H}$,

где: a – объём фильтрата (см^3), взятого для титрования, b – объём щёлочи (см^3), пошедшей на титрирование, $H._к$ – нормальность кислоты, $H._щ$ – нормальность щёлочи, P – разведение 100/50=2, K – коэффициент влажности почвы (при анализе влажной почвы), H – навеска, г.

Если фильтрат окрашен в жёлто-кремовые тона, то титрирование ведут со «свидетелем», в качестве которого используется колба с таким же объёмом исходного фильтрата.

Пример расчета. На титрование 50 см^3 фильтрата пошло 30 см^3 0,1100 н. щелочи. $S = (50 \cdot 0{,}1 - 30 \cdot 0{,}11) \cdot 2 \cdot 100 : 20 = 17$ мг·экв/100 г почвы

Форма записи

№ образца	Навеска, г	*KOH*		*HCl*		*K*	S, мг·экв/100 *г* почвы
		н.	см^3	н.	см^3		
1	20	0,11	30	0,1	50	–	17

Реактивы

1. 0,1 н. *HCl*. Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.
2. 0,1 н. раствор *KOH* или *NaOH* готовится из фиксанала.
3. Фенолфталеин 1%-й спиртовой раствор.

Расчёт степени насыщенности почвы основаниями

Степень насыщенности почв основаниями – важный показатель для характеристики поглотительной способности почвы и степени её устойчивости к внесению удобрений, известкованию, антропогенному и техногенному воздействию.

Степень насыщенности почв основаниями показывает, какая часть общей ёмкости поглощения приходится на поглощённые основания и какая – на гидролитическую кислотность. Величина степени насыщенности почв основаниями выражается в процентах и рассчитывается по данным определения суммы поглощённых основания (по Каппену) и определения гидролитической кислотности по формуле

$$V = \frac{S}{S + Hг} \cdot 100\%,$$

где: V – степень насыщенности почв основаниями, %; S – сумма поглощённых оснований, мг·экв; $H_г$ – величина гидролитической кислотности, мг·экв.

Пример расчета. Допустим, что сумма поглощенных оснований равна 17 мг·экв на 100 г почвы, а величина гидролитической кислотности – 1,05 мг·экв на 100 г почвы, тогда степень насыщенности почв основаниями такова: $V = 17 : (17 + 1{,}05) \cdot 100 = 90{,}7\%$.

Степень насыщенности почв основаниями для разных типов почв изменяется в следующих пределах

дерново-подзолистые	40 – 90%
серые лесные	50 – 95%
чернозёмные	70 – 100%
каштановые	95 – 100%
краснозёмы	10 – 40%

Этот показатель имеет существенное значение для решения практических вопросов по известкованию почв и внесению слабо растворимых форм фосфорных удобрений. Почвы, имеющие степень насыщенности основаниями менее 60% нуждаются в проведении известкования, на них также высокоэффективно внесение фосфоритной муки. На почвах, имеющих насыщенность основаниями более 80%, внесение фосфоритной муки и других слаборастворимых форм фосфорных удобрений недостаточно эффективно, оно не сопровождается существенной прибавкой урожая.

Например.

Результаты анализов трех образцов почвы представлены в таблице

№ образца	S, мг·экв/100г	$H_г$, мг·экв/100 г	V, %
1	10	4	71,4
2	30	5	85,7
3	6	3	66,6

Доза извести, как правило, рассчитывается по величине гидролитической кислотности (см. ниже). Если исходить только из величины гидролитической кислотности, то можно прийти к ошибочному выводу о том, что почва № 2 как обладающая наибольшей гидролитической кислотностью в первую очередь нуждается в известковании.

На самом деле, чтобы решить вопрос о необходимости известкования почвы, помимо величины ее гидролитической кислотности надо знать, какую долю она составляет от общей емкости поглощения почвенного поглощающего комплекса почвы.

В данном случае почва № 3 хотя и имеет наименьшую величину гидролитической кислотности, в большей степени нуждается в известковании, т.к. кислотность составляет большую долю в общей емкости поглощения ППК, по сравнению с почвами № 1 и 2.

Расчёт дозы извести при известковании почв

На кислых дерново-подзолистых почвах нельзя получить хороший урожай при внесении минеральных удобрений без предварительного известкования. Этот приём оказывает многостороннее действие на почву: нейтрализует избыточную кислотность, усиливает биологическую активность почвы, мобилизует малоподвижные формы фосфора и молибдена в почве, связывает подвижные формы алюминия и марганца, токсичные

для высших растений. Известкование рассматривают как приём коренной мелиорации почвы. Экономические затраты от известкования окупаются прибавкой урожая. Положительный эффект от известкования сохраняется 10 – 12 лет. После известкования заданная величина pH устанавливается не сразу после внесения извести, а через 2 – 3 года.

Необходимое количество извести для нейтрализации почвенной кислотности в килограммах на гектар рассчитывается по следующей формуле:

$$CaCO_3\ [кг/га] = \frac{H_г \cdot 50 \cdot 3 \cdot 10^6}{100 \cdot 1000},$$

где: $H_г$ – величина гидролитической кислотности в мг·экв/100 г почвы, 50 – мг·экв $CaCO_3$, $3 \cdot 10^6$ – средний вес пахотного (0 – 20 см) слоя дерново-подзолистой почвы на площади 1 га в кг.

В результате проведения необходимых преобразований получаем формулу в следующем виде: $CaCO_3\ [т/га] = H_г \cdot 1,5$

где: $1,5$ – количество извести (т) необходимое для нейтрализации 1 мг·экв ионов водорода в пахотном слое дерново-подзолистой почвы на площади 1 га; $H_г$ – величина гидролитической кислотности почвы.

Количество извести, необходимое для нейтрализации 1 мг·экв водорода в почве зависит от гранулометрического состава почв: на лёгких почвах оно будет меньше, а на тяжёлых – больше чем 1,5 т.

8. Примерные дозы извести, т/га, в зависимости от pH и гранулометрического состава почвы

Гранулометрический состав почвы	pH солевой вытяжки			
	4,5	4,8	5,0	5,5
Песчаные	2,5	1,6	1,3	0,6
Легкосуглинистые	4,5	3,5	3,0	2,0
Тяжелосуглинистые	7,0	6,0	5,5	4,5
Глинистые	8,0	7,0	6,5	5,5

Учитывая, что природные известковые материалы содержат определённую долю примесей в виде песка, глины, кремниевых осколков и т. п., вводят поправку на содержание чистого продукта.

Более точно дозу извести рассчитывают, вводя в предложенную формулу ряд дополнительных показателей: объёмную массу почвы, глубину пахотного горизонта, сумму обменных оснований конкретного участка или типа почвы (ВПНО «Союзсельхимия», 1982 г.).

$$CaCO_3\ [т/га] = \frac{0,05 \cdot (H_г + S)^2 \cdot d \cdot h \cdot \Delta pH \cdot V_{зам}}{pH_{исх} \cdot 100 \cdot S},$$

где: $CaCO_3$ – доза извести, т/га; ΔpH – величина прироста pH от исходного до заданного; d – объёмная масса почвы, г/см^3; h – глубина пахотного горизонта, см; S – сумма поглощённых оснований, мг·экв/100 г

почвы; $V_{зад}$ – степень насыщенности основаниями, заданная, %; $H_г$ – величина гидролитической кислотности, мг·экв/100 г почвы.

Определение содержания обменных катионов в почве

Для вытеснения обменных катионов из ППК используются растворы хлористого аммония, хлористого натрия, хлористого калия и уксуснокислого аммония.

Наиболее мягким вытеснителем является ацетат аммония. При взаимодействии его с кислыми, не насыщенными основаниями почвами образуется уксусная кислота, относящаяся к слабым кислотам и не оказывающая сильного разрушающего воздействия на почву. В случае использования в качестве вытеснителей хлоридов K, Na, NH_4^+ образуется соляная кислота, относящаяся к разряду сильных кислот и способная переводить в раствор необменные формы катионов и значительные количества полуторных окислов.

Недостатком вытяжки ацетата аммония является то, что при комплексонометрическом определении обменного Ca и Mg необходимо предварительно разрушать ацетат-ион и те органические вещества, которые перешли в вытяжку. Однако при определении Ca и Mg методом атомной адсорбции, а калия и натрия методом пламенной фотометрии разрушение ацетат-ионов проводить не следует.

Определение обменных катионов в ацетатно-аммонийной вытяжке

Ход анализа.

2 – 10 г воздушно-сухой почвы отвешивают в фарфоровую чашку и промывают декантацией 1,0 н. раствором уксуснокислого аммония с pH 7,0 до прекращения реакции на кальций.

По окончании вытеснения доводят объем раствора в мерной колбе до метки и перемешивают. В полученной вытяжке проводят определение обменного калия и натрия на пламенном фотометре, кальция и магния трилонометрически.

Реактивы

1. Раствор CH_3COONH_4 1.0 н. с pH 7.0. Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ. Реактив долго не хранится, его следует готовить перед проведением определения.

2. 10%-ный раствор HCl: на приготовление 1 дм^3 раствора этой концентрации расходуется 236,4 см^3 концентрированной HCl (d = 1,19).

Трилонометрическое определение кальция и магния

В основе метода определения кальция лежит реакция между ЭДТА (этилендиаминтетрауксусной кислотой) и катионом кальция, в результате чего образуется устойчивый комплекс состава 1 : 1. В качестве индикатора используется мурексид (аммонийная соль пурпуровой кислоты),

который, реагируя с кальцием в щелочной среде, образует окрашенный комплекс розового цвета.

Свободный индикатор имеет фиолетовую окраску. Поскольку константа устойчивости комплекса кальций – ЭДТА выше, чем у комплекса кальций – индикатор, то при титровании происходит образование комплекса с ЭДТА и высвобождение индикатора. Эту реакцию можно записать следующим образом:

$$CaInd^{-} + H_2Y^{2-} \rightarrow CaY^{2-} + Hind^{2-} + H^{+}$$

розовый фиолетовый

Конечная точка титрования достигается после того, как розовая окраска индикатора перейдет в фиолетовую.

В основе комплексонометрического определения магния лежит способность ЭДТА извлекать Mg из его окрашенного комплекса с индикаторами эриохромом черным или хромогеном черным.

В момент, когда все ионы Mg^{2+} будут извлечены из комплекса с индикатором, окраска раствора меняется из винно-красной в синюю. Реакция протекает в щелочной среде (pH 10,0).

Так как кальций также образует комплексное соединение с эриохромом черным и хромогеном черным, то определение магния проводится по разности результатов титрования: из результатов татов титрования суммы кальция и магния вычесть результаты титрования кальция.

Для комплексонометрического определения кальция и магния в вытяжках ацетата аммония необходимо предварительно разрушить ацетат-ион и те органические вещества, которые перешли в вытяжку. С этой целью взять аликвотную часть раствора (50 – 100 $см^3$), поместить в фарфоровую чашку и выпаривать досуха на водяной бане, затем прокалить полученный остаток в муфеле при 400°С. Полученный осадок растворить в 10 $см^3$ 10%-й HCl, разбавить горячей водой и отфильтровать в мерную колбу на 200 $см^3$.

Определение обменного кальция

Ход анализа.

Берут 50 $см^3$ фильтрата (см. стр. 81) в коническую колбу на 250 $см^3$ и доливают до 100 $см^3$ дистиллированной водой. Прибавляют 2 $см^3$ 5%-го водного раствора солянокислого гидроксиламина для устранения вредного влияния ионов марганца. Прибавляют несколько кристалликов диэтилдитиокарбамата натрия (для связывания тяжелых металлов). Раствор тщательно перемешивают. Приливают цилиндром 10 $см^3$ 20%-го раствора NaOH, чтобы обеспечить pH среды 12,5.

Прибавляют 20 – 30 мг индикатора мурексида, перемешивают раствор круговым движением и титруют 0,01 0,025 М раствором трилона Б (натриевая соль ЭДТА) при энергичном перемешивании до перехода окраски раствора из розовой в фиолетовую.

Титрование считается законченным, если фиолетовая окраска не изменяет своей интенсивности от добавления лишних 1 – 2 капель трилона Б. Титрование проводят со «свидетелем» – заведомо перетитрованным раствором пробы.

Рассчитывают содержание обменного кальция по формуле

$$Ca\ (мг\ экв/100\ г\ почвы) = \frac{a \cdot M \cdot p \cdot 100}{н},$$

где a – количество трилона Б, израсходованное на титрование, см^3; M – молярность трилона Б; $н$ – навеска почвы, г; p – разведение.

Определение суммы кальция и магния

Ход анализа

Берут аликвоту ацетатно-аммонийной вытяжки (приготовление которой описано на с. 81) 50 см^3 в коническую колбу на 250 см^3. Разбавляют водой до 100 см^3. Прибавляют 1 – 2 см^3 50%-го раствора солянокислого гидроксиламина и несколько кристаллов диэтилдитикарбамата натрия. Для создания щелочной среды прибавить 5 см^3 хлоридно-аммиачного буфера. Вносят 10 – 15 мг индикатора хромогена черного.

Титруют 0,01 - 0,025 М раствором трилона Б при энергичном перемешивании до перехода окраски от вишнево-красной через фиолетово-синюю в чисто-голубую в точке эквивалентности. От прибавления 1 – 2 дополнительных капель раствора трилона окраска не должна меняться. Титрование рекомендуется проводить со «свидетелем» – заведомо перетитрованной пробой.

Расчет суммы кальция и магния (в мг экв/100 г почвы) производят по формуле

$$Ca + Mg\ (мг \cdot экв/100\ г\ почвы) = \frac{a \cdot M \cdot p \cdot 100}{H},$$

где a – количество натрия Б, израсходованное на титрование, см^3;
M – молярность раствора трилона Б; p – разведение; H – навеска, г.

По разности между полученной величиной и количеством кальция определяется количество магния в почве (в мг·экв).

Реактивы

1. Раствор трилона Б 0,1 М. Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

2. Буферный раствор: 70 г NH_4Cl растворить в дистиллированной воде, добавить 570 см^3 25%-ного раствора NH_4OH и довести объем до 1 дм^3.

3. Индикаторы хромоген черный и мурексид. Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

4. 5%-ный раствор солянокислого гидроксиламина: 50 г солянокислого гидроксиламина растворяют в 950 см^3 дистиллированной воды.

Вытеснение обменных катионов хлоридом натрия и хлоридом аммония

Вытеснение обменных катионов (Ca, Mg, K, Na) 1,0 н. раствором хлористого аммония, pH 6,5, или 1,0 н. раствором хлористого натрия, pH 7,0 (в случае использования последнего реактива нельзя определить ион натрия), дает возможность определить кальций и магний трилонометрически без специальной подготовки раствора.

Ход анализа

Приготовление вытяжки: 5 г воздушно-сухой почвы, пропущенной через сито с диаметром отверстия 1 мм, промывают декантацией одним из вышеперечисленных вытеснителей в колбу емкостью 500 $см^3$ до потери фильтратом реакции на кальций. Затем доливают до метки дистиллированной водой и перемешивают.

Две аликвоты по 50 $см^3$ помещают в конические колбы на 250 $см^3$, разбавляют водой до 100 $см^3$ и определяют трилонометрически в одной – содержание Ca, а в другой – сумму Ca и Mg как было описано на предыдущей странице.

Результаты определения выражаются в мг·экв обменных Ca и Mg на 100 г почвы.

Определение обменного кальция и обменного (подвижного) магния методами ЦИНАО (ГОСТ 26487)

Представленные ниже методы определения обменного кальция и обменного (подвижного) магния в почвах используют при проведении почвенного, агрохимического, мелиоративного обследований угодий, контроля над состоянием почв и других изыскательских и исследовательских работ. Методы не распространяются на анализ проб карбонатных, загипсованных и засоленных горизонтов почв.

Суммарная относительная погрешность составляет:

- для атомно-абсорбционного и комплексонометрического методов определения кальция: 17% – для количества эквивалентов кальция до 1 ммоль в 100 г почвы, 9% – от 1 до 5 ммоль в 100 г почвы, 7,5% – более 5 ммоль в 100 г почвы;
- для атомно-абсорбционного и комплексонометрического методов определения магния: 20% – для количества эквивалентов магния до 0,2 ммоль в 100 г почвы, 10% – от 0,2 до 2 ммоль в 100 г почвы, 7,5% – более 2 ммоль в 100 г почвы;
- для фотометрического метода определения магния: 10% – для количества эквивалентов магния до 5 ммоль в 100 г почвы, 7,5% – более 5 ммоль в 100 г почвы.

Для проведения описанных ниже атомно-абсорбционного, комплексонометрического, фотометрического анализов используют фильтраты вытяжек, приготовленных для определения pH (по ГОСТу

26483, с. 67), которые предварительно взбалтывают на ротаторе в течение 1 часа или отстаивают после определения pH в течение 18 часов.

Атомно-абсорбционное определение кальция и магния

Сущность метода заключается в извлечении обменного кальция и обменного (подвижного) магния из почвы раствором хлористого калия и последующем измерении поглощения света свободными атомами определяемых элементов, образующимися в пламени при введении в него анализируемого раствора. Для устранения влияния сопутствующих элементов, образующих с кальцием или магнием труднодиссоциируемые в пламени соединения, в атомизируемые растворы вводят избыток стронция.

Определение кальция проводят по аналитической линии 422,7 нм, магния – 285,2 нм.

Ход анализа

Определение кальция и магния с использованием газовой смеси состава пропан–бутан–воздух.

При анализе проб почвенных горизонтов, не насыщенных основаниями, в химические стаканы отбирают по 5 $см^3$ фильтратов и растворов сравнения № 1 и приливают по 50 $см^3$ рабочего раствора стронция.

При анализе проб почвенных горизонтов, насыщенных основаниями, в химические стаканы дозатором или пипеткой отбирают по 2 $см^3$ фильтратов и растворов сравнения № 2 и приливают по 50 $см^3$ рабочего, раствора стронция.

Полученные растворы вводят в пламя и измеряют поглощение света по аналитической линии 422,7 нм при определении кальция и по аналитической линии 285,2 нм при определении магния.

При определении магния наконечник горелки устанавливают под углом 30° к лучу от лампы с полым катодом.

Определение кальция и магния с использованием газовой смеси состава ацетилен-воздух.

При анализе проб почвенных горизонтов, не насыщенных основаниями, отбирают по 1 $см^3$ фильтратов и растворов сравнения №1, и приливают по 50 $см^3$ рабочего раствора стронция.

При анализе проб почвенных горизонтов, насыщенных основаниями, отбирают по 0,2 $см^3$ фильтратов и растворов сравнения № 2 и приливают по 50 $см^3$ рабочего раствора стронция.

Полученные растворы вводят в пламя и измеряют поглощение света по аналитической линии 422,7 нм при определении кальция и 285,2 нм при определении магния.

Допускается пропорциональное изменение объемов проб анализируемых вытяжек, растворов сравнения и рабочего раствора хлористого стронция при погрешности дозирования не более 1%.

Обработка результатов

По результатам фотометрирования растворов сравнения строят градуировочный график. По оси абсцисс откладывают концентрации кальция или магния в растворах сравнения в пересчете в миллимоли в 100 г почвы, а по оси ординат – соответствующие им показания атомно-абсорбционного спектрофотометра.

Количество эквивалентов кальция или магния в анализируемой почве находят непосредственно по градуировочному графику и вычитают из него результат холостого опыта. Если результат определения выходит за пределы градуировочного графика, определение повторяют, предварительно разбавив фильтрат раствором хлористого калия концентрации 1 моль/дм^3. Результат, найденный по графику, увеличивают во столько раз, во сколько был разбавлен фильтрат.

За результат анализа принимают значение единичного определения кальция или магния. Результат анализа выражают в миллимолях в 100 г почвы с округлением до первого десятичного знака.

При проведении массовых анализов вместо построения градуировочного графика допускается градуирование шкалы прибора по растворам сравнения в день проведения анализа.

Допускаемые относительные отклонения от среднего арифметического результатов повторных анализов при выборочном статистическом контроле при доверительной вероятности $P = 0,95$ составляют: 25% – для количества эквивалентов кальция до 1 ммоль в 100 г почвы, 12,5% – от 1 до 5 ммоль в 100 г почвы, 10% – от 5 ммоль в 100 г почвы; 30% – для количества эквивалентов магния до 0,2 ммоль в 100 г почвы, 15% – от 0,2 до 2 ммоль в 100 г почвы, 10% – более 2 ммоль в 100 г почвы.

Реактивы

1. Запасной раствор стронция массовой концентрации 20 мг/см^3. Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

2. Рабочий раствор стронция: 1 объем запасного раствора хлористого стронция смешивают с 8 объемами дистиллированной воды. Раствор готовят в день проведения анализа.

3. Раствор кальция концентрации c (1/2 Ca^{2+}) = 0,6 моль/дм^3 (0,6 н.). Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

4. Раствор магния концентрации c (1/2 Mg^{2+}) = 0,2 моль/дм^3 (0,2 н.). Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

Допускается приготовление растворов кальция (0,6 н.) и магния (0,2 н.) в общей мерной колбе вместимостью 1000 см^3. Масса хлористого калия, добавляемого в раствор, должна при этом составлять 75 г.

5. Приготовление раствора кальция концентрации c (1/2 Ca^{2+}) = 0,15 моль/дм^3 (0,15 н.). Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

6. Раствор магния концентрации *с* (1/2 Mg^{2+}) = 0,05 моль/дм^3 (0,05 н.). Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

Допускается приготовление растворов кальция (0,15 н.) и магния (0,05 н.) в общей мерной колбе вместимостью 1000 см^3.

7. *Растворы сравнения № 1 для анализа проб почвенных горизонтов, не насыщенных основаниями, а также легких по механическому составу:* в мерные колбы вместимостью 250 см^3 помещают указанные в таблице объемы растворов кальция (0,15 н.) и магния (0,05 н.). Объемы растворов в колбах доводят до метки раствором хлористого калия концентрации 1 моль/дм^3 и тщательно перемешивают.

Характеристика раствора	Номер раствора сравнения							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Объем растворов кальция (0,15 н.) и магния (0,05 н.), см^3	0	2	4	8	12	16	20	24
Концентрация кальция в растворе сравнения, ммоль/дм^3	0	1,2	2,4	4,8	7,2	9,6	12,0	14,4
в пересчете на 100 г почвы, ммоль	0	0,3	0,6	1,2	1,8	2,4	3,0	3,6
Концентрация магния в растворе сравнения, ммоль/дм^3	0	0,4	0,8	1,6	2,4	3,2	4,0	4,8
в пересчете на 100 г почвы, ммоль	0	0,1	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0	1,2

Растворы сравнения № 2 для анализа проб почвенных горизонтов, насыщенных основаниями: в мерные колбы вместимостью 250 см^3 помещают указанные в таблице объемы растворов кальция (0,6 н.) и магния (0,2 н.). Объемы растворов в колбах доводят до метки раствором хлористого калия концентрации 1 моль/дм^3.

Характеристика раствора	Номер раствора сравнения							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Объем растворов кальция (0,6 н.) и магния (0,2 н.), см^3	0	5	10	20	30	40	50	60
Концентрация кальция в растворе сравнения, ммоль/дм^3	0	12	24	48	72	96	120	144
в пересчете на 100 г почвы, ммоль	0	3	6	12	18	24	30	36
Концентрация магния в растворе сравнения, ммоль/дм^3	0	4	8	16	24	32	40	48
в пересчете на 100 г почвы, ммоль	0	1	2	4	6	8	10	12

Растворы сравнения для определения кальция и магния допускается готовить в общих колбах и раздельно.

Растворы сравнения № 1 и № 2 используют для градуировки атомно-абсорбционного спектрофотометра в день проведения анализа.

8. Кислота соляная (ГОСТ 3118, «х.ч.» или «ч.д.а.») концентрированная и раствор с массовой долей 25%;

9. Раствор калия хлористого концентрации *с (KCl)* = 1 моль/дм^3 (1 н.). Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.;

10. Вода дистиллированная по ГОСТу 6709;

Аппаратура и материалы

1. Атомно-абсорбционный спектрофотометр с лампами с полым катодом для определения кальция и магния (допускается использование газовой смеси состава пропан-бутан-воздух и ацетилен-воздух).
2. Весы лабораторные 2-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 200 г и 4-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 500 г (ГОСТ 24104).
3. Дозаторы с погрешностью дозирования не более 1% или пипетки и бюретки 2-го класса точности (ГОСТ 20292).
4. Посуда мерная лабораторная 2-го класса точности по ГОСТу 1770.
5. Стаканы химические вместимостью 100 $см^3$ по ГОСТу 25336.
6. Бумага фильтровальная по ГОСТу 12026.

Комплексонометрическое определение кальция и магния

Сущность метода заключается в титровании кальция трилоном Б при pH 12,5 – 13,0 с использованием в качестве индикатора хрома кислотного темно-синего или мурексида и магния при pH около 10 с использованием в качестве индикатора хрома кислотного темно-синего.

Метод не пригоден для определения кальция и магния с хромом кислотным темно-синим в вытяжках с pH ниже 4,5.

Ход анализа

Определение кальция

В химический стакан или коническую колбу отбирают 5 $см^3$ фильтрата (вытяжка – с. 67) при анализе проб почвенных горизонтов, насыщенных основаниями, или 10 $см^3$ фильтрата при анализе проб почвенных горизонтов, не насыщенных основаниями. Пробу разбавляют дистиллированной водой примерно до объема 50 $см^3$ и прибавляют при непрерывном перемешивании 0,5 $см^3$ раствора гидроксиламина гидрохлорида, 2 $см^3$ раствора гидроокиси натрия, несколько кристаллов диэтил-дитиокарбамата натрия, 2 – 3 капли раствора хрома кислотного темно-синего или 10-15 мг смеси мурексида с хлористым калием и титруют кальций раствором трилона Б до перехода розовой окраски в сиреневую. Аналогично титруют холостую пробу. По окончании титрования регистрируют расход трилона Б по бюретке.

Определение магния

После титрования кальция в присутствии хрома кислотного темно-синего оттитрованный раствор подкисляют соляной кислотой, разбавленной 1:4 дистиллированной водой, до перехода к исходной розовой окраске, стараясь, чтобы избыток кислоты не превышал 1-2 капель. Прибавляют 5 $см^3$ хлоридно-аммиачного буферного раствора и титруют магний раствором трилона Б до перехода окраски от розовой к синей. Аналогично титруют холостую пробу.

Обработка результатов

Количество эквивалентов кальция или магния в анализируемой почве (X) в миллимолях в 100 г почвы вычисляют по формуле

$$X = \frac{(V - V_0) \cdot c \cdot 250}{V_1},$$

где V – объем раствора трилона Б, израсходованный на титрование кальция или магния в пробе вытяжки, см^3; V_0 – объем раствора трилона Б, израсходованный на титрование кальция или магния в холостой пробе, см^3; c – концентрация раствора трилона Б *с (½ Na_2ЭДТА)* по кальцию или магнию, ммоль/см^3; *250* – коэффициент пересчета на 100 г почвы, см^3; V_1 – объем пробы вытяжки, взятый для титрования, см^3.

Допускаемые относительные отклонения от среднего арифметического результатов повторных анализов при выборочном статистическом контроле при доверительной вероятности с P = 0,95 составляют: 25% для количества эквивалентов кальция до 1 ммоль в 100 г почвы, 12,5% – от 1 до 5 ммоль в 100 г почвы, 10% – более 5 ммоль в 100 г почвы; 30% для количества эквивалентов магния до 0,2 ммоль в 100 г почвы, 15% – от 0,2 до 2 ммоль в 100 г. почвы, 10% – более 2 ммоль в 100 г почвы.

Реактивы

1. Раствор кальция углекислого (ГОСТ 4530, «х.ч.») концентрации *с ($½ Ca^{2+}$)* = 0,05 моль/дм^3 (0,05 н.). Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

2. Раствор магния хлористого концентрации *с ($½ Mg^{2+}$)* = 0,025 моль/дм^3 (0,025 н.). Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

3. Хлоридно-аммиачный буферный раствор: 20 г хлористого аммония (ГОСТ 3773 «ч.д.а.») растворяют примерно в 500 см^3 дистиллированной воды, приливают 100 см^3 водного аммиака (ГОСТ 3769, «ч.д.а.») и дистиллированной водой доводят объем раствора до 1000 см^3. Приготовленный раствор тщательно перемешивают. Раствор хранят в склянке с притертой пробкой не более 2 мес.

4. Раствор хрома кислотного темно-синего с массовой концентрацией 5 мг/см^3. Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

5. Раствор трилона Б концентрации с (½ Na_2ЭДТА) = 0,05 моль/дм^3 (0,05 н.).

6. Раствор гидроокиси натрия (ГОСТ 4328, «х.ч.» или «ч.д.а.»), концентрации 2 моль в 1 дм^3.

7. Раствор гидроксиламина гидрохлорида (ГОСТ 5456, «ч.д.а.»), массовой концентрации 50 г/дм^3.

8. Натрия диэтилдитиокарбамат (ГОСТ 8864, «ч.д.а.»).

9. Кислота соляная (ГОСТ 3118, «х.ч.» или «ч.д.а.»), разбавленная дистиллированной водой 1 : 1 и 1: 4.

10. Спирт этиловый ректифицированный, технический по ГОСТ 18300, разбавленный дистиллированной водой 1 : 4.

11. Калий хлористый по ГОСТу 4234, «х.ч.» или «ч.д.а.».

12. Хром кислотный темно-синий, индикатор.

13. Мурексид, индикатор, приготовленный по ГОСТу 4919.1.

14. Вода дистиллированная по ГОСТу 6709.

Аппаратура и материалы

1. Весы лабораторные 2-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 200 г и 4-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 500 г по ГОСТу 24104.
2. Мешалка магнитная.
3. Дозаторы с погрешностью дозирования не более 1% или пипетки и бюретки 2-го класса точности по ГОСТу 20292.
4. Посуда мерная лабораторная 2-го класса точности по ГОСТу 1770.
5. Стаканы химические вместимостью 100 см^3 по ГОСТу 25336.
6. Бумага фильтровальная по ГОСТу 12026.

Фотометрическое определение магния

Сущность метода заключается в извлечении обменного (подвижного) магния из почвы раствором хлористого калия, получении окрашенного соединения магния с титановым желтым в щелочной среде и последующем фотометрировании окрашенных растворов. Для устранения влияния сопутствующих элементов используется триэтаноламин. Коагуляцию окрашенного соединения магния предотвращают с помощью поливинилового спирта или желатина.

Ход анализа

Определение магния

В конические колбы отбирают по 2 см^3 фильтратов (вытяжка – с. 67) и растворов сравнения № 1 при анализе проб почвенных горизонтов, не насыщенных основаниями, и по 0,2 см^3 фильтратов и растворов сравнения № 2 при анализе проб почвенных горизонтов, насыщенных основаниями. К пробам прибавляют по 40 см^3 окрашивающего реактива и перемешивают растворы. Затем при непрерывном перемешивании приливают по 4 см^3 раствора гидроокиси натрия.

Окрашенные растворы не ранее чем через 10 мин и не позднее чем через 1 ч после прибавления раствора гидроокиси натрия фотометрируют в кювете с толщиной просвечиваемого слоя 3 см относительно раствора сравнения № 1 при длине волны 545 нм или используя светофильтр с максимумом пропускания в области 520 – 560 нм.

Обработка результатов

По результатам фотометрирования растворов сравнения строят градуировочный график. По оси абсцисс откладывают концентрации магния в растворах сравнения в пересчете в миллимоли в 100 г почвы, а по оси ординат – соответствующие им показания прибора.

Количество эквивалентов магния в анализируемой почве определяют непосредственно по градуировочному графику и вычитают из него результат холостого опыта. Если результат определения выходит за

пределы градуировочного графика, определение повторяют, предварительно разбавив фильтрат раствором хлористого калия концентрации 1 моль/дм^3. Результат, найденный по графику, увеличивают во столько раз, во сколько был разбавлен фильтрат.

За результат анализа принимают значение единичного определения магния. Результат выражают в миллимолях в 100 г почвы с округлением до второго десятичного знака при содержании магния до 10 ммоль в 100 г почвы и до первого десятичного знака при содержании магния свыше 10 ммоль в 100 г почвы.

Допускаемые относительные отклонения от среднего арифметического результатов повторных анализов при выборочном статистическом контроле при доверительной вероятности $P = 0,95$ составляют 15% для количества эквивалентов магния до 5 ммоль в 100 г почвы, 10% – более 5 ммоль в 100 г почвы.

Реактивы

1. Раствор титанового желтого массовой концентрации 0,5 г/дм^3. Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

2. Раствор поливинилового спирта массовой концентрации 20 г/дм^3. Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

3. Раствор кальция концентрации $c\ (1/2\ Ca^{2+}) = 0,6$ моль/дм^3 (0,6 н.). Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

4. Приготовление окрашивающего раствора: в мерную колбу вместимостью 1000 см^3 помещают 8,5 см^3 раствора хлористого кальция концентрации 0,6 моль/дм^3 и разбавляют примерно до 600 см^3 дистиллированной водой. Прибавляют 12 см^3 раствора гидроксиламина гидрохлорида, 25 см^3 разбавленного 1 : 4 триэтаноламина, 5 см^3 раствора поливинилового спирта или 10 см^3 раствора желатина и 50 см^3 раствора титанового желтого. Раствор тщательно перемешивают после прибавления каждого реактива. Объем доводят до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают. Раствор готовят в день проведения анализа.

5. Раствор магния концентрации $c\ (1/2\ Mg^{2+}) = 0.2$ моль/дм^3 (0,2 н.). Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

6. Раствор магния концентрации $c\ (1/2\ Mg^{2+}) = 0.05$ моль/дм^3 (0.05 н.). Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

7. Приготовление растворов сравнения № 1 и № 2. См. ранее на с. 87.

8. Кислота соляная (ГОСТ 311877. «х.ч.» или «ч.д.а.»), раствор с массовой долей 25%.

9. Натрия гидроокись (ГОСТ 4526. «ч.д.а.»). раствор концентрации 2 моль/дм^3 (2 н.).

10. Гидроксиламин гидрохлорид (ГОСТ 5456. «ч.д.а.»). раствор массовой концентрации 50 г/дм^3.

11. Триэтаноламин, разбавленный дистиллированной водой 1 : 4.

12. Вода дистиллированная по ГОСТу 6709.

Аппаратура, материалы и реактивы:

1. Фотоэлектроколориметр.
2. Весы лабораторные 2-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 200 г и 4-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 500 г по ГОСТу 24104.
3. Дозаторы с погрешностью дозирования не более 1% или пипетки и бюретки 2-го класса точности по ГОСТу 20292.
4. Посуда мерная лабораторная 2-го класса точности по ГОСТу 1770.
5. Колбы конические вместимостью 100 $см^3$ по ГОСТу 25336.
6. Бумага фильтровальная по ГОСТу 12026.

Фотометрическое определение содержания обменного кальция в почвах с о-крезолфталеинкомплексоном (модификация ЦИНАО)

Метод основан на извлечении обменного кальция из почвы раствором хлористого калия концентрации 1 моль/$дм^3$ и получении окрашенного соединения кальция с *о*-крезолфталеинкомплексоном в щелочной среде (pH 10,3), создаваемой с помощью аммиачного раствора. Для маскиро-вания магния в анализируемые растворы вводят 8-оксихинолин.

Предлагаемая методика не распространяется на анализ проб карбонатных, загипсованных и засоленных горизонтов почв.

Предельные значения суммарной относительной погрешности результатов анализа для двусторонней доверительной вероятности $P=0,95$ составляют: 12% - при анализе проб с содержанием кальция $c(1/2Ca^{2+})$ до 9 ммоль в 100 г почвы; 8% - свыше 9 ммоль в 100 г почвы.

Ход анализа

Для анализа используют фильтраты вытяжек, приготовленных для определения pH (ГОСТ 26483, с. 67), которые дополнительно взбалтывают на ротаторе в течение 1 ч или отстаивают после определения pH в течение 18 ч.

Определение кальция

В конические колбы или другие технологические емкости отбирают по 0,5 $см^3$ проб растворов сравнения и анализируемых вытяжек. К пробам добавляют по 15 $см^3$ раствора 8-оксихинолина и по 35 $см^3$ аммиачного буферного раствора. После добавления реактива растворы перемешивают.

Окрашенные растворы фотометрируют не ранее чем через 20 мин., в кювете с толщиной слоя 1 см при длине волны 500 нм. Окраска устойчива в течение 1 ч.

Обработка результатов

По результатам фотометрирования растворов сравнения строят градуировочный график. По оси абсцисс откладывают концентрации кальция в растворах сравнения в пересчете на содержание в почве (ммоль/100 г), а по оси ординат – соответствующие им показания прибора.

Содержание обменного кальция в анализируемой почве определяют непосредственно по градуировочному графику и вычитают из него результат анализа холостой пробы.

Если результат определения выходит за пределы градуировочного графика, определение повторяют, разбавив вытяжку раствором хлористого калия. Данные результатов анализа разбавленной пробы увеличивают во столько раз, во сколько она была разбавлена.

Аппаратура и материалы

1. Фотоэлектроколориметр.
2. Встряхиватель с возвратно-поступательным движением и чистотой колебаний не менее 75 $мин^{-1}$.
3. Весы лабораторные 2-го и 4-го класса точности по ГОСТу 24104.
4. Колбы конические или другие емкости вместимостью не менее 150 $см^3$ для приготовления и фильтрования вытяжек из почв.
5. Воронки или фильтровальные установки.
6. Колбы мерные вместимостью 1000 и 250 $см^3$ по ГОСТу 1770.
7. Бюретка вместимостью 25 $см^3$ по ГОСТу 20292.
8. Цилиндры вместимостью 25 и 50 $см^3$ по ГОСТу 1770.
9. Пипетка вместимостью 1 $см^3$ по ГОСТу 20292.
10. Бумага фильтровальная по ГОСТу 12026.

Реактивы

1. Аммиачный буферный раствор: (1,00±0,01) г хлористого аммония помещают в мерную колбу вместимостью 1000 $см^3$, растворяют в дистиллированной воде, добавляют 30 $см^3$ водного аммиака, (0,180±0.001) г *о*-креэолфталеинкомплексона (индикатор, ТУ 6-89-2455-77, «ч.д.а.») и доводят объем до метки дистиллированной водой. Раствор готовят в день проведения анализа.
2. Приготовление раствора 8-оксихинолина: (2,50±0,01) г 8-оксихинолина помещают в мерную колбу вместимостью 1000 $см^3$, добавляют приблизительно 500 $см^3$ дистиллированной воды, 3 $см^3$ серной кислоты, растворяют реактив и доводят объем раствора до метки дистиллированной водой. Раствор хранят не более 1 мес.
3. Приготовление раствора концентрации $c(1/2Ca^{2+})$ = 0,6 $моль/дм^3$.
4. Растворы сравнения: в мерные колбы вместимостью 250 $см^3$ помещают раствор с концентрацией $c(1/2Ca^{2+})$ = 0.6 $моль/дм^3$ в объемах, указанных ниже в таблице. Объемы растворов доводят до метки раствором хлористого калия.

Характеристика раствора	Номер раствора сравнения						
	1	2	3	4	5	6	7
Объем раствора кальция (0.6 н.), $см^3$	0	2,5	5,0	7,5	10	15	20
Концентрация кальция в растворе сравнения, $ммоль/дм^3$	0	6.0	12	18	24	36	48
Содержание кальция в почве, ммоль/100 г почвы	0	1.5	3.0	4,5	6,0	9,0	12.0

Растворы сравнения хранят не более 3 мес.

5. Кальций углекислый по ГОСТ 4530, «х.ч.».

6. Серная кислота по ГОСТу 4284, «ч.д.а.».
7. Соляная кислота по ГОСТу 3118, «х.ч.», раствор с массовой долей 25%.

8. Аммиак водный (ГОСТ 3760, «ч.д.а.»).
9. Калий хлористый по ГОСТу 4234, раствор концентрации 1 моль/дм^3.
10. 8-оксихинолин (ГОСТ 5847, «ч.»).
11. Вода дистиллированная (ГОСТ 6789).

Определение обменного натрия

В вытяжках ацетата аммония или хлорида аммония (приготовление см на стр. 84) проводится определение обменного натрия на пламенном фотометре.

Рассчитать количество обменного натрия (в мг/100 г почвы) можно по формуле

$$Na_2O = \frac{a \cdot p \cdot 100}{H \cdot 23},$$

где a – количество натрия, определенное на пламенном фотометре, мг; p – разведение; H – навеска, г; 23 – эквивалент натрия.

Реактивы

1. Основной эталонный раствор с содержанием Na 1 мг/см^3: навеску 2,5222 г «х.ч.» NaCl, высушенного до постоянного веса при температуре 105°С, поместить в мерную колбу емкостью 1 дм^3, растворить в 400 – 500 см^3 дистиллированной воды, довести до метки и перемешать.

2. Серия рабочих эталонных растворов: отмерить бюреткой основной эталонный раствор в мерные колбы емкостью 1 дм^3 в следующих количествах:

Количество основного эталонного раствора, см^3	5	10	25	50	75	100
Содержание Na_2O, мг/л	5	10	25	50	75	100

Прибавить дистиллированную воду до метки, хорошо перемешать и перелить в склянки для хранения.

Метод определения обменного натрия в модификации ЦИНАО (ГОСТ 26950)

Сущность метода заключается в извлечении обменного и растворимого натрия раствором уксуснокислого аммония концентрации 1 моль/дм^3 при соотношении массы пробы почвы и объема раствора 1 : 20 и последующем определении натрия в вытяжке на пламенном фотометре. Одновременно определяют растворимый натрий в водяной вытяжке и вычисляют обменный по разности.

При анализе проб гипсосодержащих почв растворимый натрий определяют в водно-спиртовой вытяжке.

Предельные значения суммарной погрешности метода при двусторонней доверительной вероятности $P = 0,95$ составляют, ммоль в 100 г почвы: 0,1 – при содержании обменного натрия до 1 ммоль в 100 г почвы; 0,5 – от 1 до 3 ммоль в 100 г почвы; 0,8 – более 3 ммоль в 100 г почвы.

Метод не распространяется на анализ проб органических горизонтов.

Ход анализа

Приготовление ацетатно-аммонийной вытяжки (ГОСТ 26950)

Пробы воздушно-сухой почвы массой 5,0 г взвешивают с погрешностью не более 0,1 г и помещают в конические колбы. К пробам приливают по 100 $см^3$ раствора уксуснокислого аммония концентрации 1 моль/$дм^3$. Одновременно проводят холостой опыт. Пробу с раствором перемешивают в течение 1 ч на ротаторе или встряхивателе и фильтруют полученные суспензии через бумажные фильтры. Фильтрат для определения натрия.

При использовании весов с устройством пропорционального дозирования экстрагента допускается отбор пробы массой 4,0 – 6,0 г.

Допускается перемешивание пробы с раствором в течение 3 мин вместо 1 ч с последующим настаиванием суспензий в течение 18 – 24 ч. После настаивания суспензии перемешивают и фильтруют. Фильтраты используют для определения натрия.

Приготовление водной вытяжки (ГОСТ 26423)

Пробы воздушно-сухой почвы массой 30 г, взвешенные с погрешностью не более 0,1 г, помещают в емкости, установленные в десятипозиционные кассеты или в конические колбы. К пробам приливают дозатором или цилиндром по 150 $см^3$ дистиллированной воды. Почву с водой перемешивают в течение 3 мин на взбалтывателе, ротаторе или с помощью пропеллерной мешалки и оставляют на 5 мин для отстаивания.

При использовании весов пропорционального дозирования экстрагента допускается отбор пробы массой 25 – 30 г.

Допускается пропорциональное изменение массы пробы почвы и объема дистиллированной воды при сохранении отношения между ними 1:5 и при погрешности дозирования не более 2%.

Приготовление водно-спиртовой вытяжки (ГОСТ 26950)

Пробы воздушно-сухой почвы массой 5,0 г взвешивают с погрешностью не более 1,0 г и помещают в конические колбы. К пробам приливают по 25 $см^3$ этилового спирта, разбавленного дистиллированной водой 1:1. Одновременно проводят холостой опыт. Пробы с раствором перемешивают в течение 3 мин на встряхивателе или ротаторе. Полученные суспензии фильтруют через бумажные фильтры. Фильтраты используют для определения натрия.

Определение натрия

Пламенный фотометр настраивают в соответствии с инструкцией по его эксплуатации на измерение концентрации натрия. Для градуировки прибора используют растворы сравнения. Натрий определяют по аналитическим линиям 589,0 или 289,9 нм. Растворы сравнения и анализируемые фильтраты вытяжек вводят в пламя и регистрируют показания прибора. Настройку прибора проверяют по первому и последнему раствору сравнения не реже, чем через 20 определений.

При использовании пламенных фотометров с индикаторными устройствами, которые можно настраивать в единицах концентрации, допускается градуировка прибора по растворам сравнения в измеряемых единицах в диапазоне концентраций, рекомендованном заводом-изготовителем. Для обеспечения нормальных условий работы прибора допускается разбавление растворов сравнения и анализируемых вытяжек в одинаковое число раз, чтобы сохранить номинальные значения концентраций растворов сравнения и исключить необходимость пересчета результатов анализа.

Обработка результатов

По результатам фотометрирования растворов сравнения строят градуировочный график в линейном масштабе. Масштаб выбирают такой, чтобы длина оси абсцисс была равна 20 см, а оси ординат – 15 – 20 см. Градуировочный график строят по результатам единичных определений.

По оси абсцисс откладывают концентрации натрия в растворах сравнения в пересчете в миллимоли в 100 г почвы, а по оси ординат – соответствующие им показания прибора.

Сумму обменного и растворимого натрия, а также содержание растворимого натрия в анализируемой почве определяют непосредственно по градуировочному графику и вычитают результат холостого опыта. Если результат определения выходит за пределы градуировочного графика, определение повторяют, предварительно разбавив фильтрат экстрагирующим раствором. Результат, найденный по графику, увеличивают во столько раз, во сколько был разбавлен фильтрат.

Содержание обменного натрия (X) в анализируемой почве, ммоль в 100 г почвы, вычисляют по формуле $X = X_1 - X_2$,

где X_1 – результат анализа ацетатно-аммонийной вытяжки, ммоль в 100 г почвы; X_2 – результат анализа водной или водно-спиртовой вытяжки, ммоль в 100 г почвы.

За результат анализа принимают значение единичного определения натрия. Результата анализа выражают в миллимолях в 100 г почвы с округлением до первого десятичного знака.

Допускаемые отклонения при двусторонней доверительной вероятности P = 0,95 от среднего арифметического результата повторных анализов

при выборочном статистическом контроле составляют, ммоль в 100 г почвы: 0,07 – при содержании обменного натрия до 1 ммоль в 100 г почвы; 0,3 – от 1 до 3 ммоль в 100 г почвы; 0,5 – более 3 ммоль в 100 г почвы.

Реактивы

1. Раствор аммония уксуснокислого концентрации 1 моль/дм^3 с pH 6,7 – 7,0. Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.
2. Раствор натрия хлористого концентрации 0,05 моль/дм^3. Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

3. Раствор натрия хлористого концентрации 0,1 моль/дм^3. Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

4. Растворы сравнения для определения натрия в ацетатно-аммонийной вытяжке. В мерные колбы вместимостью 250 см^3 помещают указанные в таблице объемы раствора *NaCl* 0,05 моль/дм^3 и доводят объемы до метки раствором уксуснокислого аммония концентрации 1 моль/дм^3.

Характеристика раствора	Номера раствора сравнения						
	1	2	3	4	5	6	7
Объем р-ра *NaCl* (0,05 моль/дм^3), см^3	0	5,0	10	20	30	40	50
Концентрация натрия в растворе сравнения, моль/м^3	0	1,0	2,0	4,0	6,0	8,0	10
В пересчете на 100 г почвы, ммоль	0	2,0	4,0	8,0	12	16	20

Приготовленные растворы тщательно перемешивают и хранят в склянке с притертой пробкой не более 1 мес. При появлении мути или осадка раствор заменяют свежеприготовленными.

5. Растворы сравнения для определения натрия в водной вытяжке (с. 127-128, ГОСТ 26427).

6. Растворы сравнения для определения натрия в водно-спиртовой вытяжке: в мерные колбы, вместимостью 250 см^3, помещают указанные в таблице объемы раствора *NaCl* (0,1 моль/дм^3), доводят объемы до метки этиловым спиртом, разбавленным дистиллированной водой 1:1.

Характеристика раствора	Номер раствора сравнения							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Объем раствора *NaCl* 0,1 моль/дм^3, см^3	0	2,5	5,0	7,5	10	15	20	25
Концентрация натрия: в растворе сравнения, моль/м^3	0	1,0	2,0	3,0	4,0	6,0	8,0	10
В пересчете на 100 г почвы, ммоль	0	0,5	1,0	1,5	2,0	3,0	4,0	5,0

Приготовленные растворы тщательно перемешивают и хранят в склянке с притертой пробкой не более 1 мес.
Растворы сравнения используют для градуировки пламенного фотометра в день проведения анализа.

7. Аммиак водный, «ч.д.а.», раствор с массовой долей 10% по ГОСТ 3760.

8. Кислота уксусная, «х.ч.» или «ч.д.а.», раствор с массовой долей 10% (ГОСТ 31).

9. Спирт этиловый ректифицированный, технический, разбавленный дистиллированной водой 1:1 по ГОСТу 18300.

10. Вода дистиллированная по ГОСТу 6709.

Аппаратура и материалы

1. Фотометр пламенный с монохроматором или интерференционными светофильтрами с максимумом пропускания в области 588-590 нм (допускается использованием газовых смесей состава пропан-бутан-воздух и сетевой газ-воздух).
2. pH-метр милливольтметр или ионометр с погрешностью изменения не более 0,05 pH.
3. Электрод стеклянный для изменения активности ионов водорода типа ЭСЛ-43-07 или электрод, имеющий такие же технические и метрологические характеристики.
4. Электрод сравнения хлорсеребряный насыщенный образцовый 2-го разряда по ГОСТу 17792 или электрод, имеющий такие же технические и метрологические характеристики.
5. Весы лабораторные 2-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 200 г и 4-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 500 г по ГОСТу 24104.
6. Весы квадрантные с устройством пропорционального дозирования ВКПД-40 с погрешностью не более 2%.
7. Ротатор с оборотом на 360° или встряхиватель с возвратно-поступательным движением с частотой колебаний не менее 75 $мин^{-1}$.
8. Дозаторы с погрешностью дозирования не более 1% или цилиндры исполнения 1 или 2 вместимостью 25 и 100 $см^3$, по ГОСТ 1770.
9. Колбы мерные исполнения 1 или 2, вместимостью 250 и 1000 $см^3$ 2-го класса точности, по ГОСТу 1770.
10. Кассеты десятипозиционные с технологическими емкостями или колбы конические исполнения 1 или 2, вместимостью 250 $см^3$ по ГОСТу 25336.
11. Установки фильтровальные десятипозиционные или воронки стеклянные по ГОСТу 25336.
12. Бумага фильтровальная по ГОСТу 12026.

Определение степени засоленности и солонцеватости почв

В степной, сухостепной и пустынной зонах значительные площади занимают засоленные почвы и солонцы. Значительная часть этих почв при обычной агротехнике мало пригодна или непригодна для возделывания на них сельскохозяйственных культур. В засоленных почвах основным фактором, препятствующим росту растений, является повышенное содержание легко растворимых солей в почвенном растворе. Солонцеватые почвы и солонцы вследствие присутствия в их поглощающем комплексе значительного количества натрия имеют крайне неблагоприятные для роста растений физические и химические свойства.

Определение степени засоленности и солонцеватости почв необходимо для оценки возможности выращивания на них сельскохозяйственных культур, прогнозирования урожаев и в особенности при

планировании мелиоративных мероприятий, при помощи которых можно существенным образом снизить или устранить воздействие легкорастворимых солей и обменного натрия, содержащегося в этих почвах.

Определение степени засоленности почв

Неблагоприятное влияние легкорастворимых солей на рост и развитие растений вызывается в основном повышением осмотического давления почвенного раствора по отношению к осмотическому давлению клеточного сока растений. В результате затрудняется поступление воды и растворенных в ней питательных веществ в корневую систему и ткани растения. Под влиянием засоления изменяются проницаемость и свойства клеточной плазмы, зольный состав растений, может увеличиваться поступление и избыточное накопление вредных легкорастворимых солей и уменьшаться поступление необходимых для нормального развития и роста питательных веществ. Вследствие изменения обмена веществ у растений на засоленных почвах может снизиться продуктивность фотосинтеза и т. д.

У растений-негалофитов, произрастающих на засоленных почвах, как правило, задерживается набухание семян и снижается энергия прорастания, наблюдается отставание в образовании вегетативных и генеративных органов, задерживается цветение, снижается урожай и ухудшается его качество. При высокой концентрации солей в почве наступает гибель растений.

Из солей, приводящих к засолению почв и неблагоприятно воздействующих на растения, чаще всего встречаются карбонаты, гидрокарбонаты, хлориды и сульфаты кальция, магния, натрия и калия. Вредное влияние этих солей на качество и величину урожая начинает сказываться при их содержании около 0,1% от веса сухой почвы. Общее содержание солей 0,5 – 1%, как правило, полностью подавляет рост культурных растений. При этом различные растения неодинаково чувствительны к присутствию легкорастворимых солей. Пшеница, овес, просо, горох, вика, люцерна хуже переносят засоление, чем хлопчатник, ячмень, рожь, тимофеевка, сорго. Из зерновых культур наиболее чувствительна к ним кукуруза. Картофель выносит засоление не более 0,1%. Бобовые менее солеустойчивы, чем все прочие культуры. Плодовые плохо переносят засоление. Наиболее выносливы из них груша, виноград, инжир.

С другой стороны, различные соли действуют на растения неодинаково. Наиболее вредное влияние оказывают карбонаты, хлориды и сульфаты натрия, из которых самый токсичный – карбонат натрия (сода). Максимально допустимое содержание в почве соды 0,005%. Вредность указанных солей убывает от первой к последней примерно в соотношении 10:3:1. К вредным солям относятся также бикарбонат

натрия ($NaHCO_3$), хлорид и сульфат магния ($MgCl_2$ и $MgSO_4$) и хлорид кальция ($CaC1_2$).

Существует несколько группировок почв по степени засоленности в зависимости от химического состава солей, гранулометрического состава почвы и др. В таблице 9 приводится группировка почв в зависимости от общего содержания солей и соотношения хлоридов, сульфатов и карбонатов в их составе.

В соответствии с этой таблицей наиболее благоприятны для возделывания сельскохозяйственных культур незасоленные почвы. На слабозасоленных почвах высокие урожаи можно получать лишь при высокой агротехнике (своевременная обработка, правильное орошение, применение удобрений, особенно органических, и т. д.).

9. Группировка почв по степени засоленности (по Карпинскому, Балябо, Францесону, Ляхову)

Степень засоленности почв	Плотный остаток	Cl^-	SO_4^{2-}	HCO_3^-
	в% к абсолютно сухой почве			
Для хлоридного и хлоридно-сульфатного засоления				
Незасоленные	<0,3	<0,01	–	–
Слабозасоленные	0,3–0,5	0,01–0,05	–	–
Среднезасоленные	0,5–1,0	0,05–0,10	–	–
Сильнозасоленные	1,0–2,0	0,1–0,2	–	–
Солончаки	>2,0	>0,2	–	
Для сульфатного и хлоридно-сульфатного засоления				
Незаселенные	<0,3	<0,01	<0,10	–
Слабозасоленные	0.3 1,0	0,01	0.1 – 0,4	–
Среднезасоленные	1,0 – 2,0	0,05	0,4 – 0,6	–
Сильнозасоленные	2,0 – 3,0	0,10	0.6 – 0,8	–
Солончаки.	>3,0	–	>0,8	
Для содового и смешанного засоления (по Н. В. Орловскому)				
Незасоленные	<0,2	0,01	0,02	<0.06
Слабозасоленные	0,2 – 0,5	0.01	0.05 – 0,1	0.1 – 0,2
Среднезасоленные	0,5	0,1	0,2	0,2 – 0,3
Сильнозасоленные	0,5 – 0,7	0,02	0.2	0,3 – 0,4
Солончаки	0,7–1,0	0,02	0,2	>0,4

На сильнозасоленных почвах и солончаках культурные растения нормально расти и развиваться не могут. Для использования этих почв в сельскохозяйственном производстве необходимо их коренное улучшение проведением ряда специальных гидромелиоративных мероприятий (орошение, дренаж, промывка).

Содержание легкорастворимых солей в почве оценивают по содержанию их в водной вытяжке или насыщенной водой почвенной пасте. Каждый из этих методов извлечения легкорастворимых солей

имеет свои особенности (Воробьева, 1998). Оба метода позволяют перевести в жидкую фазу практически все легкорастворимые соли и относительно правильно оценивают содержание солей в расчете на массу почвы. Метод насыщенной водой почвенной пасты, кроме того, позволяет более или менее точно оценить концентрацию солей в почвенных растворах, так как содержание воды при приготовлении насыщенных водой почвенных паст и водоудерживающая способность почвы находятся в определенном соответствии. Поэтому при анализе насыщенных водой почвенных паст часто используют показатели, характеризующие концентрацию солей в фильтратах. Результаты анализа водных вытяжек более корректно относить к массе почвы, а не к объему жидкой фазы вытяжки.

В отечественных исследованиях наиболее часто применяют извлечение легкорастворимых солей методом водной вытяжки.

Приготовление водной вытяжки из почвы

В сухую колбу емкостью 750 $см^3$ переносят 100 г воздушно-сухой почвы, пропущенной через сито с диаметром отверстий 1–2 мм, приливают 500 $см^3$ дистиллированной воды без CO_2, закрывают резиновой пробкой и встряхивают в течение 5 мин. Затем вытяжку отфильтровывают через плотный складчатый фильтр. При фильтровании почву целесообразно сразу перенести на воронку, что способствует забиванию пор фильтра и получению более прозрачного фильтрата.

Водные вытяжки следует анализировать сразу же после получения и предохранять от воздействия паров хлористого водорода и аммиака.

Определение плотного остатка водной вытяжки

Сухой или плотный остаток водной вытяжки – массовая доля (%) высушенного при 100–105°С остатка, полученного выпариванием аликвоты водной вытяжки. Сухой остаток дает представление об общем содержании минеральных и органических соединений в водной вытяжке. При прокаливании плотного остатка или озолении его пероксидом водорода получают прокаленный остаток, содержащий только минеральные вещества.

Плотный остаток – один из важных показателей степени засоления почвы. Его определяют выпариванием некоторого объема водной вытяжки из почвы, высушиванием остатка в термостате и его взвешиванием.

Общее содержание легкорастворимых солей в почве можно найти и по электропроводности водной вытяжки. Ее готовят так же, как и для определения сухого остатка.

В предварительно просушенную при 105°С и взвешенную на аналитических весах платиновую или фарфоровую чашку диаметром 7 см пипеткой наливают 50 $см^3$ водной вытяжки и выпаривают на водяной бане. При малом количестве легкорастворимых солей после выпаривания первых 50 $см^3$ приливают в чашку еще несколько раз по 50 $см^3$. Общее количество выпаренной вытяжки учитывают.

Затем чашку с остатком высушивают в шкафу в течение 3 часов при 105°С, охлаждают в эксикаторе и взвешивают. В том случае, если сухой остаток после первого взвешивания превышает 0,1 г, его повторно высушивают 1 – 2 часа и взвешивают на аналитических весах.

Массовую долю плотного остатка в процентах к абсолютно сухой почве рассчитывают по формуле:

$$\textit{Плотный остаток},\% = \frac{m_{ост} \cdot V_0 \cdot 100}{m \cdot V_{ал} \cdot},$$

$m_{ост}$ – вес остатка, в г; m – навеска абсолютно сухой почвы почвы, в $г^{-1}$; $V_{ал}$ – объем аликвоты водной вытяжки, взятой для выпаривания; V_0 – общий объем вытяжки.

Прокаленный остаток указывает на общее количество минеральных солей в водной вытяжке из почвы. Для его определения чашку с сухим остатком после высушивания в термостате и взвешивания прокаливают в муфеле в течение 30 мин при температуре 525°С (темно-красное каление), охлаждают в эксикаторе и взвешивают на аналитических весах.

Прокаливание, охлаждение и взвешивание повторяют до постоянного веса чашки с минеральным остатком. Результаты вычисляют по той же формуле, что и при определении сухого остатка.

Методы определения удельной электрической проводимости, pH и плотного остатка водной вытяжки из засоленных почв (ГОСТ 26423)

Методы определения удельной электрической проводимости, pH и плотного остатка водной вытяжки используют при проведении почвенного, агрохимического и мелиоративного обследования угодий, контроля за состоянием солевого режима почв, а также при других исследовательских и изыскательских работах с целью оценки общей концентрации солей.

Суммарная относительная погрешность составляет:
7,5% – при определении удельной электрической проводимости до 0.3 мСм/см; 5% – более 0,3 мСм/см;
20% – при массовой доле плотного остатка от 0.1 до 0,3%; 7,5% – от 0.3% до 1%; 5% – более 1%.
При измерении pH суммарная погрешность метода составляет 0.1 единицы pH.

Сущность метода заключается в извлечении водорастворимых солей из почвы дистиллированной водой при отношении почвы к воде 1:5 и определении удельной электрической проводимости водной вытяжки с помощью кондуктометра и pH с помощью pH-метра. При отсутствии кондуктометра определяют плотный остаток вытяжки.

Ход анализа

Приготовление водной вытяжки из почвы

Пробы почвы массой 30 г, взвешенные с погрешностью не более 0,1 г, помещают в емкости, установленные в десятипозиционные кассеты или в конические колбы. К пробам приливают дозатором или цилиндром по 150 $см^3$ дистиллированной воды. Почву с водой перемешивают в течение 3 мин на взбалтывателе, ротаторе или с помощью пропеллерной мешалки и оставляют на 5 мин для отстаивания. При использовании весов пропорционального дозирования экстрагента допускается отбор пробы массой 25–30 г.

Допускается пропорциональное изменение массы пробы почвы и объема дистиллированной воды при сохранении отношения между ними 1:5 и при погрешности дозирования не более 2%.

Определение электрической проводимости

Предварительно *определяют константу кондуктометрической ячейки* (датчика), для этого датчик кондуктометра погружают в раствор хлористого калия концентрации 0.01 моль/$дм^3$ и определяют электрическую проводимость.

Константу датчика (X), $см^{-1}$, вычисляют по формуле $X = \frac{1{,}41}{a \cdot k}$,

где *1,411* – удельная электрическая проводимость раствора хлористого калия концентрации 0,01 моль/$дм^3$ при 25°С, мСм/см; a – измеренная электрическая проводимость раствора хлористого калия концентрации 0,01 моль/$дм^3$, мСм; k – коэффициент поправки для приведения электрической проводимости, измеренной при данной температуре, к 25°С.

Если прибор имеет температурный компенсатор, k = 1. При отсутствии температурного компенсатора определяют температуру раствора хлористого калия с помощью лабораторного термометра и находят значение коэффициента по таблице:

°С	k	°С	k
15	1,254	23	1.044
16	1,224	24	1,021
17	1,196	25	1.000
18	1.168	26	0.979
19	1.142	27	0.960
20	1.118	28	0.941
21	1,092	29	0.923
22	1.067	30	0.906

Затем после 5-минутного отстаивания в суспензию погружают датчик кондуктометра и определяют электрическую проводимость. После каждого определения датчик тщательно промывают дистиллированной водой.

Если прибор не имеет автоматического температурного компенсатора, определяют температуру анализируемых вытяжек или дистиллированной воды, находящейся в тех же условиях. При отсутствии котдуктометра определяют плотный остаток вытяжки.

Измерение pH

Часть почвенной суспензии объемом 15–20 $см^3$ сливают в химический стакан вместимостью 50 $см^3$ и используют для измерения pH.

Настройку pH-метра проводят по трем буферным растворам с pH 4,01, 6,86 и 9,18, приготовленным из стандарт-титров. Показания прибора считывают не ранее чем через 1,5 мин после погружения электродов в измеряемую среду, после прекращения дрейфа измерительного прибора. Во время работы настройку прибора периодически проверяют по буферному раствору с pH 6,86.

Фильтрование суспензий

В воронки помещают двойные складчатые фильтры. Край фильтра должен быть расположен на 0,5–1 см ниже края воронки. В начале фильтрования необходимо перенести на фильтр возможно большее количество почвы. Струю суспензии направляют на боковую стенку воронки, чтобы не порвать фильтр. Первую порцию фильтрата объемом до 10 $см^3$ отбрасывают и только затем начинают собирать фильтрат в чистый сухой приемник. Мутные фильтраты перефильтровывают.

Если почва имеет щелочную реакцию и содержит мало растворимых солей, для ускорения фильтрования и получения прозрачного фильтрата используют целлюлозную массу. Для ее приготовления фильтровальную бумагу измельчают, помещают в термостойкий стеклянный или фарфоровый стакан и наливают дистиллированную воду в таком объеме, чтобы бумагу можно было перемешивать стеклянной палочкой. Стакан с размокшей бумагой кипятят при постоянном помешивании до получения однородной массы. Горячей целлюлозной массой запаривают двойные фильтры, вложенные в воронки. После того как стечет вода, фильтры высушивают в термостате при температуре 50°С или на воздухе и используют для фильтрования.

По окончании фильтрования фильтраты тщательно перемешивают круговыми движениями и используют для определения катинно-анионного состава водной вытяжки. Анализ начинают с определения ионов карбоната и бикарбоната.

Определение плотного остатка вытяжки

Отбирают дозатором или пипеткой 25 $см^3$ фильтрата, помещают в высушенную и взвешенную с погрешностью не более 0,001 г фарфоровую чашку и ставят на водяную баню для выпаривания фильтрата. По окончании выпаривания чашку помещают в термостат, выдерживают в

нем в течение 3 ч при температуре 105°С, охлаждают в эксикаторе и взвешивают с погрешностью не более 0,001 г.

Обработка результатов

За результат анализа принимают значение единичного определения.

Удельную электрическая проводимость вытяжки, (X), мСм/см, вычисляют по формуле $X = a \cdot C \cdot k$,

где a – измеренная электрическая проводимость вытяжки, мСм; C – константа кондуктометрической ячейки (датчика), $см^{-1}$; k – коэффициент температурной поправки для приведения электрической проводимости, измеренной при данной температуре, к 25° С, найденный по таблице 10.

Массовую долю плотного остатка водной вытяжки в анализируемой почве (X_1) в процентах вычисляют по формуле

$$X_1 = \frac{(m - m1) \cdot 500}{25},$$

где m – масса чашки с остатком, г; m_1 – масса пустой чашки, г; *500* – коэффициент пересчета в проценты; *25*– объем пробы вытяжки, $см^3$.

Допускаемые относительные отклонения при доверительной вероятности $P = 0,95$ от среднего арифметического результатов повторных анализов при выборочном статистическом контроле составляют:

11% – при определении удельной электрической проводимости до 0,3 мСм/см;

7% – более 0,3 мСм/см;

30% – при массовой доле плотного остатка от 0,1 до 0,3%; 10% – от 0,3 до 1,0%;

7,5% – более 1,0%

0,2 единицы pH – при измерении pH.

При полном анализе катионно-анионного состава водной вытяжки точность результатов оценивают по близости сумм количеств эквивалентов катионов и анионов, а также по воспроизводимости суммы катионов, суммы анионов и общей суммы ионов при повторных анализах.

Допускаемые отклонения (X), ммоль в 100 г почвы, при доверительной вероятности $P = 0,95$ от среднего арифметического суммы катионов, суммы анионов или общей суммы ионов в почве при повторных анализах, а также допускаемую разность сумм катионов и анионов вычисляют по формуле

$$X = \sqrt{\sum \varepsilon_i^2}$$

где ε_i – допускаемое отклонение от среднего арифметического при повторных анализах для i-го иона, ммоль в 100 г почвы.

Если допускаемое отклонение нормировано в относительных процентах, его абсолютное значение (ε_i) вычисляют по формуле

$$\varepsilon_i = a_i \cdot V_i : 100,$$

где a_i – количество вещества эквивалента i-го иона в почве, ммоль в 100 г; V_i – допускаемое отклонение при определении i-го иона в соответствии с методом его определения, %; *100* – коэффициент пересчета процентов в сотые доли.

Количественное соотношение между значением удельной электрической проводимости и содержанием водорастворимых солей в почве

устанавливают для различных типов засоления по результатам анализа водной вытяжки не менее 20 почвенных проб данного типа засоления.

Реактивы

1. Раствор хлористого калия концентрации 0,01 моль/дм^3 (0,01 н.). Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

2. Стандарт-титры для приготовления образцовых буферных растворов 2-го разряда по ГОСТ 8.135.

3. Вода дистиллированная (ГОСТ 6709) с удельной электрической проводимостью не более $5 \cdot 10^{-6}$ мСм/см.

Аппаратура и материалы

1. Кондуктомер с диапазоном измерений 0,01–100 мСм/см и погрешностью измерений не более 5%.
2. Весы лабораторные 2-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 200 г и 4-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 500 г (ГОСТ 24104).
3. Взбалтыватель с возвратно-поступательным движением с частотой колебаний 75 мин$^{-1}$, или ротатор с оборотом на 360°, или пропеллерная мешалка с частотой вращения лопастей 700 мин$^{-1}$ для перемешивания почвы с водой.
4. Весы квадрантные с устройством пропорционального дозирования ВКПД-40 г с погрешностью взвешивания не более 2%;
5. pH-метр или иономер с погрешностью измерений не более 0,05 pH.
6. Электрод стеклянный для определения активности ионов водорода.
7. Электрод сравнения хлорсеребряный насыщенный образцовый 2-го разряда (ГОСТ 17792) или аналогичный.
8. Дозаторы с погрешностью дозирования не более 2% или цилиндры 2-го класса точности (ГОСТ 1770).
9. Кассеты десятипозиционные с емкостями вместимостью 200 см^3 или колбы конические вместимостью 250 см^3 (ГОСТ 25336).
10. Установки фильтровальные десятипозиционные или воронки стеклянные (ГОСТ 25336).
11. Посуда мерная лабораторная стеклянная (ГОСТ 1770).
12. Пипетки 2-го класса точности (ГОСТ 20292).
13. Стаканы химические вместимостью 50 см^3 по ГОСТ 25336.
14. Чашки фарфоровые диаметром 7 см.
15. Термометр лабораторный с диапазоном измерений 15 – 30°С и ценой деления 1°С.
16. Термостат с автоматической регулировкой, обеспечивающий температуру нагревания 105°С.
17. Баня водяная.
18. Бумага фильтровальная (ГОСТ 12026).

Определение щелочности почв

Засоленные почвы нередко имеют значение pH > 7. Это может неблагоприятно сказываться на росте культурных растений. Высокие значения pH обусловлены присутствием в почве оснований, в качестве которых в большинстве почв выступают карбонат- и гидрокарбонат-

ионы в жидких фазах. Щелочность почвенного раствора может вызываться также анионами кремневой и органических кислот.

Как правило, при анализе водных вытяжек определяют щелочность, обусловленную карбонатами (CO_3^{2-}), которые вызывают особенно значительное повышение значений pH и общую щелочность.

Определение щелочности, обусловленной CO_3^{2-}-ионами

Вытяжки, содержащие свободные CO_3^{2}-ионы, имеют pH > 8,2 и окрашиваются фенолфталеином в розовый цвет. При титровании такой вытяжки серной кислотой карбонат-ион присоединяет H^+-ион и переходит в гидрокабонат, обладающий более слабыми щелочными свойствами и создающий в растворе значение pH около 7: $CO_3^{2-} + H^+ = HCO_3^-$.

В результате фенолфталеин обесцвечивается. Следует учитывать, что при титровании по фенолфталеину, согласно уравнению реакции, карбонат-ион оттитровывается лишь наполовину, т.е. до образования бикарбоната.

Ход анализа

К 25 – 50 см^3 водной вытяжки в конической колбочке прибавляют 1 – 2 капли фенолфталеина (реактив 1) и при появлении розовой окраски, что указывает на присутствие CO_3^{2-}, титруют 0,01 н. раствором H_2SO_4 (реактив 2) до исчезновения окраски. Для большей точности определения конца титрования следует рядом с колбочкой, в которой проводят титрование, поставить такую же колбочку с таким же количеством вытяжки, но без фенолфталеина. Титруют до тех пор, пока окраска жидкости в колбочке с фенолфталеином не сравняется с окраской жидкости в колбочке без индикатора.

Вычисление количества содержащихся в вытяжке карбонат-ионов ведут по уравнению

$$CO_3^{2-}, ммоль(-)/100\ г\ почвы = \frac{2\ V_1 \cdot н. \cdot V_0 \cdot 100}{m \cdot V_{ал} \cdot}, \qquad (I)$$

где V_1 – объем кислоты, пошедшей на титрование по фенолфталеину, см^3; *н.* – нормальность серной кислоты, ммоль/см^3; V_0 – общий объем воды, добавленной к навеске почвы, см^3; $V_{ал}$ – объем аликвоты, см^3; m – навеска почвы, г; *2* – коэффициент, указывающий, что карбонат ион оттитровывается только наполовину.

Если необходимо получить результат в процентах к весу почвы, получен-ное число ммоль(-)CO_3^{2-}/100 г почвы умножают на 0,03, т.е. на молярную массу CO_3^{2-}.

Определение общей щелочности

Метод заключается в титровании вытяжки кислотой в присутствии индикатора метилоранжа, т.е. до pH около 4,4. При этом оттитровываются все основания, присутствующие в вытяжке. Карбонат- и

гидрокарбонат-ионы, составляющие подавляющую часть этих оснований, оттитровываются до H_2CO_3

$$CO_3^{2-} + 2H^+ = H_2CO_3$$
$$HCO_3^- + H^+ = H_2CO_3$$

Ход анализа

После определения щелочности от нормальных карбонатов, а при их отсутствии – непосредственно после добавления фенолфталеина (если не появилась окраска) в ту же колбочку приливают две капли метилоранжа и титруют 0,01 н. раствором H_2SO_4 до перехода желтой окраски в оранжевую. Титрование проводят со свидетелем – колбочкой с водой и двумя каплями метилоранжа.

Расчет количества общей щелочности ведут по уравнению

$$\text{Общая щелочность ммоль(-)/100 г почвы} = \frac{2 \cdot (V_1 + V_2) \cdot н. \cdot V_0 \cdot 100}{m \cdot V_{ал}},$$

где V_2 – объем кислоты, пошедшей на титрование по метилоранжу, см^3; остальные обозначения как в уравнении (*I*) (см. с. 107).

При расчете процентного содержания компонентов, обуславливающих общую щелочность, обычно делают допущение, что она представлена только с карбонат и бикарбонат-ионами, и количество общей щелочности, выраженное в ммоль(-)/100 г почвы умножают на молярную массу эквивалента HCO_3^-, т.е. на *0,061*.

Реактивы, аппаратура и материалы приведены в следующей методике (по ГОСТу 26424).

Определение ионов карбоната и бикарбоната в водной вытяжке из засоленных почв (ГОСТ 26424)

Настоящий метод используют при проведении почвенного, агрохимического, мелиоративного обследования угодий, контроля за состоянием солевого режима почв, а также при других изыскательских и исследовательских работах.

Сущность метода заключается в титровании раствором серной кислоты в водной вытяжке ионов карбоната до pH 8,3, бикарбоната – до pH 4,4. Конечную точку титрования устанавливают с помощью pH-метра или по изменению окраски индикаторов – фенолфталеина (pH 8,3) и метилового оранжевого (pH 4,4).

Для анализа темно-окрашенных вытяжек титрование с использованием индикаторов не применяют.

Суммарная погрешность метода, выраженная средним квадратическим отклонением, составляет 0.07 ммоль в 100 г почвы.

Ход анализа

Для анализа используют фильтры вытяжек, приготовленных по ГОСТ 26423 (см. с. 103).

Определение ионов карбоната и бикарбоната

Отбирают дозатором или пипеткой 20 $см^3$ водной вытяжки в химический стакан и помещают стакан на магнитную мешалку. Заполняют бюретку раствором серной кислоты концентрации 0,02 моль/$дм^3$. В пробу вытяжки погружают электродную пару и кончик дозирующей трубки бюретки. На блоке автоматического титрования задают значение pH конечной точки титрования, равное 8,3. Включают магнитную мешалку, pH-метр и блок автоматического титрования. Когда показания pH-метра установятся, открывают кран бюретки, титруют пробу до pH 8,3 и регистрируют расход кислоты. Затем задают на блоке автоматического титрования значение pH конечной точки титрования, равное 4,4, и продолжают титрование. По окончании титрования регистрируют расход кислоты на бюретке.

При отсутствии блока автоматического титрования пробы титруют вручную. Значение pH контролируют с помощью pH-метра или по индикаторам. При использовании индикаторов сначала к пробе прибавляют 1 каплю раствора фенолфталеина и, если раствор приобретает малиновую окраску, титруют до ее исчезновения (pH 8,3). Затем прибавляют 1 каплю раствора метилового оранжевого и титруют раствор до перехода окраски от желтой к оранжевой (pH 4,4).

Обработка результатов

Количество эквивалентов карбонат-иона (X), ммоль в 100 г почвы, вычисляют по формуле $X = 2 \cdot c \; V \cdot 500 : V_1$,

где *2* – коэффициент, учитывающий, что при pH 8,3 карбонат-ион оттитрован наполовину; c – концентрация раствора серной кислоты $c(1/2\ H_2SO_4)$ моль/$дм^3$; V – объем раствора серной кислоты, израсходованный на титрование пробы до pH 8,3, $см^3$; *500* – коэффициент пересчета ммоль в 100 г почвы; V_1 – объем пробы вытяжки, $см^3$.

Массовую долю карбонат-иона в почве (X_1) в процентах вычисляют по формуле: $X_1 = C \cdot 0{,}030$, где C – количество эквивалентов карбонат-иона в анализируемой почве, ммоль в 100 г; *0,030* – коэффициент пересчета в проценты.

Количество эквивалентов бикарбонат-иона (X), ммоль в 100 г почвы, вычисляю по формуле: $X = c\,(V_1 - V) \cdot 500 : V_2$, где c – концентрация раствора серной кислоты ммоль/$см^3$; V_1 – объем раствора серной кислоты, израсходованный на титрование пробы до pH 8,3 (или ниже, если отсутствует карбонат-ион) до pH 4,4, $см^3$; V – объем раствора серной кислоты, израсходованный на титрование пробы до pH 8,3, $см^3$; *500* – коэффициент пересчета ммоль в 100 г почвы; V_2 – объем пробы вытяжки, $см^3$.

Массовую долю бикарбонат-иона в почве (X_1) в процентах вычисляют по формуле: $X_1 = C \cdot 0{,}061$, где C – количество эквивалентов бикарбонат-

иона в анализируемой почве, ммоль в 100 г; *0,061* – коэффициент пересчета в проценты.

За результат анализа принимают значение единичного определения карбонат- и бикарбонат-иона. Результат выражают в миллимолях в 100 г почвы и в процентах с округлением до трех значащих цифр.

Допускаемое отклонение при доверительной вероятности P = 0,95 от среднего арифметического результатов повторных анализов при выборочном статистическом контроле составляет 0,10 ммоль в 100 г почвы.

Реактивы

1. Раствор серной кислоты концентрации 0,1 моль/дм^3 (0,1 н.) готовят из стандарт-титра.
2. Раствор серной кислоты концентрации 0,02 моль/дм^3 (0,02 н.): отбирают пипеткой 100 см^3 раствора серной кислоты концентрации 0,1 моль/дм^3 (0,1 н.) в мерную колбу вместимостью 500 см^3, доводят объем до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают. Раствор хранят в склянке с притертой пробкой не более 3 мес.
3. Фенолфталеин, индикатор (ГОСТ 5850), раствор с массовой долей 2% в этиловом спирте.
4. Метиловый оранжевый, индикатор (ГОСТ 10816), раствор с массовой долей 0,1%.
5. Спирт этиловый ректификованный технический (ГОСТ 18300);
6. Вода дистиллированная (ГОСТ 6709).

Аппаратура и материалы

1. pH-метр или иономер с погрешностью измерений не более 0,05 pH.
2. Электрод стеклянный для определения активности ионов водорода.
3. Электрод сравнения хлорсеребряный насыщенный образцовый 2-го разряда (ГОСТ 17792) или аналогичный.
4. Блок автоматического титрования БАТ-15 или аналогичный прибор.
5. Магнитная мешалка.
6. Бюретка вместимостью 5 см^3 2-го класса точности (ГОСТ 20292).
7. Дозаторы с погрешностью дозирования не более 1% или пипетки 2-го класса точности (ГОСТ 20292).
8. Стаканы химические вместимостью 100 см^3 (ГОСТ 25336).
9. Посуда мерную лабораторная 2-го класса точности (ГОСТ 1770).

Определение хлорид-ионов

Метод основан на образовании труднорастворимого осадка хлорида серебра при титровании водной вытяжки азотнокислым серебром. Титрование проводят в присутствии хромата калия в качестве индикатора. Конечную точку титрования устанавливают по началу образования хромата серебра. Хромат серебра образуется после того, как практически все хлорид-ионы связываются в хлорид серебра:

$$NaCl + AgNO_3 = AgCl\downarrow + NaNO_3;$$

$$K_2CrO_4 + 2AgNO_3 = Ag_2CrO_4 + 2KNO_3$$

Осадок хлорида серебра имеет белый цвет, а хромата серебра – кирпично-красный. Таким образом, по изменению окраски реагирующей смеси можно судить об окончании образования хлорида серебра.

Следует учитывать, что в кислой среде возможно образование дихромата из хромата, а в щелочной – образование гидроксида серебра. Кроме того, различные анионы, присутствующие в вытяжке, и прежде всего CO_3^{2-}, могут образовывать труднорастворимые осадки с ионом серебра.

Ход анализа

Объем вытяжки для анализа устанавливают путем предварительного испытания ее на хлор-ион. В пробирку помещают 10 см^3 вытяжки и прибавляют к ней несколько капель 5%-го раствора $AgNO_3$.

Руководствуются следующими признаками:

а) если помутнения не наблюдается, хлорид-ион отсутствует;

б) появление опалесценции указывает на присутствие хлорид-иона, для титрования берут 50 см^3 водной вытяжки;

в) при выпадении небольшого осадка берут 20 см^3 вытяжки;

г) если выпадет осадок средней величины, для анализа надо брать от 5 до 20 см^3 вытяжки;

д) при выпадении очень большого осадка берут 5 см^3 вытяжки и разбавляют в определенном отношении дистиллированной водой.

Установленный указанным путем объем вытяжки помещают в коническую колбочку, нейтрализуют 0,01 н. раствором H_2SO_4 (контроль с лакмусовой бумагой), прибавляют 1 см^3 10%-го раствора хромата калия K_2CrO_4 и титруют 0,01 н. раствором $AgNO_3$ до перехода желтой окраски раствора в слегка красноватую (кирпично-красную).

Для более точного определения конца титрования, особенно при малом содержании хлоридов, необходимо во время титрования окраску раствора сравнивать со свидетелем, для чего берут такую же коническую колбочку с таким же объемом дистиллированной воды, в которую добавлен 1 см^3 хромовокислого калия.

Вычисление результатов анализа ведут по уравнению

$$Cl^-_{ммоль(-)/100\ г\ почвы} = \frac{2 \cdot н. \cdot V_0 \cdot 100}{m \cdot V_{ал}},$$

где V – объем $AgNO_3$, пошедший на титрование, см^3; *н.* – молярность $AgNO_3$, ммоль/см^3; V_0 – общий объем воды, добавленной к навеске почвы, см^3; $V_{ал}$ – объем аликвоты, см^3; m – навеска почвы, г.

При расчете процентного содержания Cl^--ионов их количество, выраженное в ммоль(-)/100 г почвы, умножают на молярную массу эквивалента Cl^-, т.е. на *0,0355*.

Аппаратура, материалы и реактивы перечислены далее в методике определения хлорид-ионов в модификации ЦИНАО (ГОСТ 26425. с. 113):

Определение иона хлорида в водной вытяжке из засоленных почв (ГОСТ 26425)

Настоящие методы определения иона хлорида в водной вытяжке из засоленных почв используют при проведении почвенного, агрохимического, мелиоративного обследования угодий, контроля за состоянием солевого режима почв, а также при других изыскательских и исследовательских работах.

Суммарная относительная погрешность составляет:

- для аргентометрического метода 15% – для количества эквивалентов иона хлорида до 2 ммоль в 100 г почвы; 5% – св. 2 ммоль в 100 г почвы;
- для метода прямой ионометрии 12% – для количества эквивалентов иона хлорида до 0,5 ммоль в 100 г почвы; 8,5% – св. до 50 ммоль в 100 г почвы;
- для ионометрического титрования 15% – для количества эквивалентов иона хлорида до 2 ммоль в 100 г почвы; 8% – св. 2 до 6 ммоль в 100 г почвы; 5% – св. 6 ммоль в 100 г почвы.

Для анализов используют фильтры вытяжек, приготовленных по ГОСТу 26423 (см. с. 103).

Определения иона хлорида аргентометрическим методом по Мору

Сущность метода заключается в титровании иона хлорида в водной вытяжке раствором азотнокислого серебра, образующим с ионом хлорида труднорастворимое соединение. Для установления конечной точки титрования в раствор добавляют хромат калия, образующий с избытком серебра осадок, вызывающий переход окраски раствора от желтой к красно-бурой.

Метод не применяют для анализа темно-окрашенных вытяжек.

Ход анализа

Пробу водной вытяжки объемом от 2 до 20 $см^3$ отбирают дозатором или пипеткой в коническую колбу, приливают дистиллированную воду до объема 20 – 30 $см^3$, 1 $см^3$ раствора хромовокислого калия с массовой долей 10% и титруют раствором азотнокислого серебра до перехода окраски от желтой к красно-бурой.

Объем пробы вытяжки устанавливают по величине удельной электрической проводимости или по величине плотного остатка:

- 20 $см^3$ – при удельной электрической проводимости вытяжки до 1,5 мСм/см или массовой доле плотного остатка до 0,7%;
- 10 $см^3$ – при удельной электрической проводимости 1,5–3 мСм/см или массовой доле плотного остатка 0,7–1,5%;
- 2 $см^3$ – при удельной электрической проводимости более 3 мСм/см или массовой доле плотного остатка более 1,5%.

Для анализа допускается использовать пробу вытяжки, в которой проводилось определение карбонат- и бикарбонат-иона.

Обработка результатов

Количество эквивалентов иона хлорида (X), ммоль в 100 г почвы, вычисляют по формуле: $X = V \cdot c \cdot 500 : V_1$, где V – объем раствора азотнокислого серебра, пошедший на титрование $см^3$; c – концентрация раствора азотнокислого серебра, ммоль/$см^3$; 500 – коэффициент пересчета на 100 г почвы; V_1 – объем пробы водной вытяжки, $см^3$.

Массовую долю иона хлорида в почве (X_1) в процентах вычисляют по формуле: $X_1 = C \cdot 0{,}0355$, где C – количество эквивалентов иона хлорида в почве, ммоль в 100 г; $0{,}0355$ – коэффициент пересчета в проценты.

За результат анализа принимают значение единичного определения иона хлорида. Результат выражают в миллимолях в 100 г почвы и в процентах с округлением до трех значащих цифр.

Допускаемые относительные отклонения при доверительной вероятности $P = 0{,}95$ от среднего арифметического результатов повторных анализов при выборочном статистическом контроле составляют: 21% – для количеств эквивалентов иона хлорида до 2 ммоль в 100 г почвы; 7% – более 2 ммоль в 100 г почвы.

Реактивы

1. Раствор хлорида концентрации 0,1 моль/$дм^3$. Приготовление 0,1 н. KCl см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

Для приготовления раствора допускается использовать стандарт-титр хлористого калия или хлористого натрия.

2. Раствор хлорида концентрации 0,01 моль/$дм^3$: 10 $см^3$ раствора хлорида концентрации 0,1 моль/$дм^3$ помещают в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ и доводят объем до метки дистиллированной водой.

Раствор готовят в день применения.

3. Раствор азотнокислого серебра концентрации 0,02 моль/$дм^3$. Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

4. Раствор калия хромовокислого (ГОСТ 4459 «х.ч.» или «ч.д.а.») с массовой долей 10%.

5. Вода дистиллированная (ГОСТ 6709).

Аппаратура и материалы

1. Весы лабораторные 2-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 200 г и 4-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 500 г (ГОСТ 24104).
2. Дозаторы с погрешностью дозирования не более 1%.
3. Пипетки и бюретки 2-го класса точности (ГОСТ 20292):
4. Посуда мерная лабораторная 2-го класса точности (ГОСТ 1770).
5. Колбы конические вместимостью 250 $см^3$ (ГОСТ 25336).

Определение иона хлорида методом прямой ионометрии

Сущность метода заключается в определении разности потенциалов хлоридного ионоселективного и вспомогательного электродов, значение которой зависит от концентрации иона хлорида в растворе. В качестве вспомогательного электрода используют насыщенный хлорсеребряный электрод. Для предотвращения загрязнения анализируемого раствора хлористым калием из солевого контакта вспомогательного электрода применяют переходную электролитическую ячейку, заполненную раствором азотнокислого калия концентрации 1 моль/дм^3.

Ход анализа

Подготовка к работе ионоселективного хлоридного электрода производится следующим образом: внутреннюю полость корпуса электрода промывают дистиллированной водой, ополаскивают раствором хлористого калия концентрации 0,1 моль/дм^3 и заливают 1,5 см^3 того же раствора, удаляют пузырьки воздуха встряхиванием, ввинчивают в корпус хлорсеребряный полуэлемент и помещают электрод на 24 ч в раствор хлористого калия концентрации 0,0001 моль/дм^3.

Вспомогательный электрод готовят к работе в соответствии с инструкцией завода-изготовителя. К подготовленному к работе электроду присоединяют электролитическую ячейку, входящую в комплект иономера, или аналогичную, заполненную раствором азотнокислого калия концентрации 1 моль/дм^3.

Определение иона хлорида

Электродную пару погружают в растворы сравнения и определяют ЭДС с помощью иономера или pH-метра милливольтметра в милливольтах. Измерения начинают с раствора хлорида концентрации 0,0001 моль/дм^3. Показания прибора считывают не ранее чем через 2 мин после погружения электродов в раствор, после прекращения заметного дрейфа прибора.

Определение ЭДС в растворах сравнения повторяют не менее трех раз в течение рабочего дня для проверки работы прибора и электродов.

После определения ЭДС в растворах сравнения электродную пару тщательно обмывают дистиллированной водой, промокают фильтровальной бумагой, погружают в анализируемые вытяжки и определяют ЭДС. При переносе электродов из одного фильтрата в другой их обмывают дистиллированной водой и промокают бумагой.

Температура анализируемых вытяжек и растворов сравнения должна быть одинаковой.

Обработка результатов

По результатам определения ЭДС в растворах сравнения на масштабно-координатной бумаге марки Н (миллиметровке) строят граду-

ировочный график. По оси абсцисс откладывают значения pC_{Cl} растворов сравнения, а по оси ординат – соответствующие им показания прибора.

Используя градуировочный график, определяют pC_{Cl} анализируемых вытяжек. Количество эквивалентов иона хлорида в почве определяют с помощью таблицы 10 по значению pC_{Cl}. Допускается проводить градуировку ионометра по растворам сравнения непосредственно в единицах pC_{Cl} в день проведения анализа.

10. Пересчет pC_{Cl} в миллимоли в 100 г почвы

pC_{Cl}	Сотые доли pC_{Cl}									
	0,00	***0,01***	***0,02***	***0,03***	***0,04***	***0,05***	***0,06***	***0,07***	***0,08***	***0,09***
1,0	50,0	48,9	47,7	46,7	45,6	44,6	43,5	42,6	41,6	40,6
1,1	39,7	38,8	37,9	37,1	36,2	35,4	34,6	33,8	33,0	32,3
1,2	31,5	30,8	30,1	29,4	28,8	28,1	27,5	26,9	26,2	25,6
1,3	25,1	24,5	23,9	23,4	22,9	22,3	21,8	21,3	20,8	20,4
1,4	19,9	19,5	19,0	18,6	18,2	17,7	17,3	16,9	16,6	16,2
1,5	15,8	15,5	15,1	14,8	14,4	14,1	13,8	13,5	13,2	12,9
1,6	12,6	12,3	12,0	11,7	11,5	11,2	10,9	10,7	10,4	10,2
1,7	9,98	9,75	9,53	9,31	9,10	8,89	8,69	8,49	8,30	8,11
1,8	7,92	7,74	7,57	7,40	7,23	7,06	6,90	6,74	6,59	6,44
1,9	6,29	6,15	6,01	5,87	5,74	5,61	5,48	5,36	5,23	5,12
2,0	5,00	4,89	4,77	4,67	4,56	4,46	4,35	4,26	4,16	4,06
2,1	3,97	3,88	3,79	3,71	3,62	3,54	3,46	3,38	3,30	3,23
2,2	3,15	3,08	3,01	2,94	2,88	2,81	2,75	2,69	2,62	2,56
2,3	2,51	2,45	2,39	2,34	2,29	2,23	2,18	2,13	2,08	2,04
2,4	1,99	1,95	1,90	1,86	1,81	1,77	1,73	1,69	1,66	1,62
2,5	1,58	1,55	1,51	1,48	1,44	1,41	1,38	1,35	1,31	1,29
2,6	1,26	1,23	1,20	1,17	1,15	1,12	1,09	1,07	1,05	1,02
2,7	0,998	0,975	0,953	0,931	0,910	0,889	0,869	0,849	0,830	0,811
2,8	0,792	0,774	0,757	0,740	0,723	0,706	0,690	0,675	0,659	0,644
2,9	0,629	0,615	0,601	0,587	0,574	0,561	0,548	0,536	0,524	0,512
3,0	0,500	0,489	0,477	0,467	0,456	0,446	0,435	0,426	0,416	0,406
3,1	0,397	0,388	0,379	0,371	0,362	0,354	0,346	0,338	0,330	0,323
3,2	0,315	0,308	0,301	0,294	0,288	0,281	0,275	0,269	0,262	0,256
3,3	0,251	0,245	0,239	0,234	0,229	0,223	0,218	0,213	0,208	0,204
3,4	0,199	0,195	0,190	0,186	0,182	0,177	0,173	0,169	0,166	0,162
3,5	0,158	0,155	0,151	0,148	0,144	0,141	0,138	0,135	0,132	0,129

Массовую долю иона хлорида в почве (X) в процентах вычисляют по формуле: $X = C \cdot 0{,}0355$, где C – количество эквивалентов иона хлорида в почве, ммоль в 100 г; $0{,}0355$ – коэффициент пересчета в проценты.

За результат анализа принимают значение единичного определения иона хлорида. Результат выражают в миллимолях в 100 г почвы и в процентах с округлением до трех значащих цифр.

Допускаемые относительные отклонения при доверительной вероятности $P = 0,95$ от среднего арифметического результатов повторных анализов при выборочном статистическом контроле составляют: 17% – для количества эквивалентов иона хлорида до 0,5 ммоль в 100 г почвы: 12% – от 0,5 до 50 ммоль в 100 г почвы.

Реактивы

1. Раствор хлорида концентрации 0,1 моль/дм^3 ($pC_{Cl}=1$). Приготовление 0,1 н. KCl см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

2. Растворы сравнения концентрации 0,01; 0,001 и 0,0001 моль/дм^3 готовят последовательным десятикратным разбавлением раствора хлорида концентрации 0,1 моль/дм^3. pC_{Cl} приготовленных растворов соответственно равен 2; 3 и 4.

3. Калий азотнокислый (ГОСТ 4217, «х.ч.» или «ч.д.а.»), раствор концентрации 1 моль/дм^3;

4. вода дистиллированная (ГОСТ 6709).

Аппаратура и материалы

1. Весы лабораторные 2-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 200 г и 4-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 500 г (ГОСТ 24104).
2. Иономер или pH-метр милливольтметр с погрешностью изменений не более 5 мВ.
2. Ионоселективный хлоридный электрод типа ЭМ-Cl-01 или аналогичный с твердой мембраной.
3. Электрод сравнения хлорсеребряный насыщенный образцовый 2-го разряда (ГОСТ 17792).
4. Ячейка электролитическая, заполненная раствором азотнокислого калия концентрации 1 моль/дм^3.
5. Стаканы химические вместимостью 50 и 100 см^3 (ГОСТ 25336).
6. Пипетки и бюретки 2-го класса точности (ГОСТ 20292).
4. Посуда мерная лабораторная 2-го класса точности (ГОСТ 1770).

Определение иона хлорида методом ионометрического титрования

Сущность метода заключается в титровании иона хлорида в водной вытяжке раствором азотнокислого серебра, образующего с ионом хлорида труднорастворимое соединение. Индикацию конечной точки титрования проводят ионометрически с помощью хлоридного ионоселективного электрода.

Ход анализа

Подготовка к работе ионоселективного хлоридного электрода производится следующим образом: внутреннюю полость корпуса электрода промывают дистиллированной водой, ополаскивают раствором хлористого калия концентрации 0,1 моль/дм^3 и заливают 1,5 см^3 того же раствора, удаляют пузырьки воздуха встряхиванием, ввинчивают в корпус хлорсеребряный полуэлемент и помещают электрод на 24 ч в раствор хлористого калия концентрации 0,0001 моль/дм^3.

Вспомогательный электрод готовят к работе в соответствии с инструкцией завода-изготовителя. К подготовленному к работе электроду присоединяют электролитическую ячейку, входящую в комплект иономера, или аналогичную, заполненную раствором азотнокислого калия концентрации 1 моль/дм^3.

Определение иона хлорида. Отбирают дозатором или пипеткой 2–20 см^3 анализируемой вытяжки в химический стакан. Объем пробы для анализа устанавливают, как описано на с. 112. К пробе приливают дозатором или из бюретки 1 см^3 азотной кислоты, разбавленной 1:150. Заполняют бюретку раствором азотнокислого серебра концентрации 0,02 моль/дм^3.

На блоке автоматического титрования *устанавливают значение ЭДС конечной точки титрования*, определенное следующим образом: отбивают дозатором или пипеткой 10 см^3 раствора хлорида концентрации 0,01 моль/дм^3 в химический стакан и прибавляют дозатором или из бюретки 1 см^3 азотной кислоты, разбавленной 1:150. Заполняют бюретку раствором азотнокислого серебра. Устанавливают на блоке автоматического титрования значение ЭДС конечной точки титрования. Стакан с раствором хлорида ставят на магнитную мешалку и помещают в него магнит. Включают мешалку, опускают в титруемый раствор электродную пару, включают блок значения ЭДС. По окончании титрования регистрирует расход азотнокислого серебра.

Значение ЭДС конечной точки титрования (X), мВ, вычисляют по формуле $X = E + 110$ *мВ,* где E – ЭДС используемой для титрования электродной пары в растворе хлорида концентрации 0,001 моль/дм^3, мВ. Титрование проводят три раза, и для расчета точной концентрации используют среднее арифметическое результатов трех титрований.

Затем помещают стакан с пробой на магнитную мешалку и включают блок автоматического титрования и титруют раствор до заданного значения ЭДС. По окончании титрования регистрируют расход азотнокислого серебра по бюретке.

Обработка результатов

Количество эквивалентов иона хлорида (X), ммоль в 100 г почвы, вычисляют по формуле: $X = V \cdot c \cdot 500 : V_1$, где V – объем раствора азотнокислого серебра, израсходованного на титрование, см^3; c – концентрация раствора азотнокислого серебра, ммоль/см^3; 500 – коэффициент пересчета на 100 г почвы; V_1 – объем пробы водной вытяжки, взятый для титрования, см^3.

Массовую долю иона хлорида в почве (X_1) в процентах вычисляют по формуле: $X_1 = C \cdot 0{,}0355$, где C – количество эквивалентов иона хлорида в почве, ммоль в 100 г; 0,0355 – коэффициент пересчета в проценты.

За результат анализа принимают значение единичного определения иона хлорида. Результаты анализа выражают в миллимолях в 100 г почвы и в процентах с округлением до трех значащих цифр.

Допускаемые относительные отклонения при доверительной вероятности P = 0,95 от среднего арифметического результатов повторных анализов при выборочном статистическом контроле составляют: 21% – для количества эквивалентов иона хлорида до 2 ммоль в 100 г почвы; 11% – от 2 до 6 ммоль в 100 г почвы; 7% – более 6 ммоль в 100 г почвы.

Реактивы

1. Раствор хлорида концентрации 0,1 моль/дм^3. Приготовление 0,1 н. KCl см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

Для приготовления раствора допускается использовать стандарт-титр хлористого калия или хлористого натрия.

2. Раствор хлорида концентрации 0,01 моль/дм^3: 10 см^3 раствора хлорида концентрации 0,1 моль/дм^3 помещают в мерную колбу вместимостью 100 см^3 и доводят объем до метки дистиллированной водой. Раствор готовят в день применения.

3. Раствор хлорида концентрации 0,001 моль/дм^3: 10 см^3 раствора хлорида концентрации 0,01 моль/дм^3 помещают в мерную колбу вместимостью 100 см^3 и доводят объем до метки дистиллированной водой. Раствор готовят в день применения.

4. Раствор азотнокислого серебра концентрации 0,02 моль/дм^3. Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

5. Кислота азотная (ГОСТ 4461, «х.ч.» или «ч.д.а.») разбавленная дистиллированной водой 1:150.

6. Раствор калия азотнокислого (ГОСТ 4217-77, «х.ч.» или «ч.д.а.») концентрации 1 моль/дм^3.

7. Вода дистиллированная (ГОСТ 6709).

Аппаратура и материалы (в добавление к перечисленным на с. 113):

1. Иономер или pH-метр милливольтметр с блоком автоматического титрования с погрешностью измерений не более 5 мВ.

2. Магнитная мешалка.

3. Ионоселективный хлоридный электрод типа ЭМ-Cl-01 или аналогичный с твердой мембраной.

4. Электрод сравнения насыщенный хлорсеребряный образцовый 2-го разряда (ГОСТ 17792).

5. Ячейка электролитическая, заполненная раствором азотнокислого калия концентрации 1 моль/дм^3.

Определение содержания сульфат-ионов

Гравиметрический метод определения содержания сульфат-ионов

Сущность гравиметрического метода (по Воробьевой, 1998) определения сульфат ионов SO_4^{2-} в водной вытяжке основана на способности его образовывать с ионом Ba^{2+} (при взаимодействии с хлористым барием) труднорастворимый осадок сернокислого бария $BaSO_4$:

$$Na_2SO_4 + BaCl_2 = BaSO_4 + 2NaCl.$$

По весу осадка судят о количестве сульфат-ионов.

Ход анализа

Объем вытяжки для анализа устанавливают предварительной пробой на сульфат-ион. Для этого берут в пробирку 10 $см^3$ вытяжки, подкисляют несколькими каплями HCl и прибавляют 1 $см^3$ $BaCl_2$. После тщательного перемешивания нагревают раствор до кипения.

По величине осадка и степени помутнения раствора определяют объем вытяжки для анализа на содержание иона SO_4^{2-}. Во внимание принимают такие показатели:

а) если помутнения нет, SO_4^{2-} в растворе отсутствует;

б) помутнение раствора указывает на сравнительно небольшое содержание SO_4^{2-}; для анализа берут 50 $см^3$ вытяжки;

в) при выпадении осадка для количественного определения SO_4^{2-} берут от 5 до 20 $см^3$ вытяжки;

г) если осадок очень большой, вытяжку берут в небольшом объеме (5 - 10 $см^3$) и разбавляют до 50 $см^3$ дистиллированной водой.

Вытяжку установленного объема помещают в химический стакан, подкисляют ее 1 – 2 каплями 10%-ной соляной кислоты и нагревают раствор до кипения. Затем в этот же стакан приливают 5 $см^3$ кипящего (в пробирке) раствора хлористого бария и продолжают кипячение несколько минут; стакан накрывают стеклом и ставят не меньше чем на 4 часа в теплый сушильный шкаф или на водяную баню.

После этого в прозрачную жидкость над осадком приливают по капле раствор хлористого бария. Если появляется муть (что указывает на неполное осаждение), в стакан добавляют несколько миллилитров раствора хлористого бария и снова оставляют на несколько часов в теплом месте.

Если осаждение полное (муть не появилась), содержимое стакана фильтруют через плотный беззольный фильтр; осадок переносят на фильтр и промывают кипящей дистиллированной водой, подкисленной соляной кислотой, до исчезновения реакции на барий (с серной кислотой). Фильтр с осадком переносят в предварительно прокаленный тарированный фарфоровый тигель, подсушивают в сушильном шкафу, озоляют и прокаливают в муфеле при температуре не выше 750°С. Прокаленный тигель с осадком охлаждают в эксикаторе и взвешивают на аналитических весах. Целесообразно повторное прокаливание до установления постоянного веса осадка.

Расчет

Количество сульфат-ионов вычисляют по массе сульфата бария, извлеченное из почвы методом водной вытяжки:

$$SO_4^{2-}\% = \frac{m_1 \cdot V_0 \cdot 100 \cdot 96{,}064}{m \cdot V_{an} \cdot 233{,}404},$$

где m_1 – масса осадка $BaSO_4$, г; $V_{ал}$ – объем аликвоты водной вытяжки, $см^3$; V_0 – объем добавленной к почве воды, $см^3$; m – навеска почвы, г; *96,064* и *233,404* – молекулярные массы SO_4^{2-} и $BaSO_4$.

$$SO_4^{2-}{}_{ммоль(-)/100\ г\ почвы} = \frac{SO_4^{2-}\%}{M(\frac{1}{2}SO_4^{2-})},$$

где $M(\frac{1}{2}SO_4^{2-})$ – молярная масса эквивалента сульфат-иона, 0,048 г/ммоль.

Аппаратура, материалы и реактивы перечислены далее в методике весового определения сульфат-ионов в модификации ЦИНАО (ГОСТ 26426, с. 124).

Модификация метода определения сульфат ионов с фотометрическим окончанием

Предлагаемая модификация метода менее трудоемкая, чем классический гравиметрический метод определения сульфат-ионов по весу осадка сульфата бария.

Метод основан на образовании труднорастворимых осадков $BaSO_4$ и $BaCrO_4$, а также на способности хромат-иона переходить в дихромат.

Трудно растворимый хромат бария растворяют в соляной кислоте. При этом хромат-ионы переходят в дихромат-ионы, образующие с ионами Ba^{2+} легкорастворимую соль:

$$2BaCrO_4\downarrow + HCl \leftrightarrow BaCr_2O_7 + BaCl_2$$

Ионы SO_4^{2-}, содержащиеся в вытяжке, осаждают избытком этого раствора с образованием осадка $BaSO_4$:

$$SO_4^{2-} + BaCr_2O_7 = BaSO_4\downarrow + Cr_2O_7^{2-}$$

Таким образом, в результате этой реакции в растворе остается избыток $BaCr_2O_7$ и «свободные» ионы $Cr_2O_7^{2-}$, количество которых эквивалентно содержавшимся в водной вытяжке ионам SO_4^{2-}. Чтобы отделить эту часть ионов $Cr_2O_7^{2-}$, $BaCr_2O_7$ при помощи добавления в систему щелочи переводят обратно в нерастворимую форму $BaCrO_4$.

«Свободные» ионы $Cr_2O_7^{2-}$ при этом превращаются в хромат-ионы. Последние придают раствору лимонно-желтый цвет, и их концентрация может быть определена фотометрически.

Ход анализа.

Аликвоту водной вытяжки (3 – 20 $см^3$) помещают в мерную колбу вместимостью 50 $см^3$, приливают 2,5 $см^3$ раствора-осадителя сульфат-ионов – солянокислый 0,05 М раствор $BaCrO_4$, содержимое колбы перемешивают и колбы 30 мин выдерживают на горячей водяной бане.

Затем в колбу по каплям при постоянном перемешивании прибавляют 25%-й раствор аммиака до выпадения лимонно-желтого осадка и перехода оранжевой окраски раствора в лимонно-желтую. Объем жидкости в колбе доводят дистиллированной водой до метки,

содержимое колбы тщательно перемешивают и фильтруют через плотный фильтр («синяя лента») в сухую коническую колбу или стакан. Оптическую плотность фильтрата измеряют при длине волны 400 нм.

Для получения градуировочной кривой в мерные колбы вместимостью 50 $см^3$ помещают 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 $см^3$ стандартного 0,02 н. раствора Na_2SO_4. Затем в колбы до половины их объема добавляют дистиллированную воду и проводят через все стадии анализа, как приведено выше.

Содержание сульфат-ионов рассчитывают по уравнениям:

$$SO_4^{2-}{}_{ммоль(-)/100\ г\ почвы} = \frac{C_{SO_4} \cdot V_o \cdot 100}{V_{ал} \cdot m},$$

где C_{SO_4} – концентрация эквивалентов сульфат-ионов, ммоль(-)/50 $см^3$; $V_{ал}$ – объем аликвоты водной вытяжки, $см^3$; V_o – общий объем воды, добавленный к почве, $см^3$; m – масса навески, г.

Для расчета процентного содержания ионов SO_4^{2-} на массу почвы их количество, выраженное в ммоль(-)/100 г почвы, умножают на молярную массу эквивалента сульфат-ионов, 0,048 г/ммоль(-).

Реактивы

1. Раствор осадителя сульфат-ионов – солянокислый 0,05 М раствор $BaCrO_4$. Приготовление его см. в ПРИЛОЖЕНИИ.
2. Раствор аммиака 25%-й.
3. Раствор Na_2SO_4 0,02 н. Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.
4. Вода дистиллированная (ГОСТ 6709).

Аппаратура и материалы

1. Фотоэлектроколориметр.
2. Весы лабораторные 2-го класса точности.
3. Пипетки и бюретки 2-го класса точности (ГОСТ 20292).
4. Посуда мерная лабораторная 2-го класса точности (ГОСТ 1770).
5. Колбы мерные конические вместимостью 50 $см^3$.
6. Баня водяная.
7. Бумага фильтровальная («синяя лента»).

Методы определения иона сульфата в водной вытяжке (в модификации ЦИНАО, ГОСТ 26426)

Весовой и турбидиметрический методы определения иона сульфата в водной вытяжке из засоленных почв используют при проведении почвенного, агрохимического, мелиоративного обследования угодий, контроля за состоянием солевого режима почв, а также при других изыскательских и исследовательских работах.

Суммарная относительная погрешность составляет:

- для весового метода: 10% – для количества эквивалентов иона сульфата от 1 до 3 ммоль в 100 г почвы; 5% – более 3 ммоль в 100 г почвы;

• для турбидиметрического метода: 10% – для количества эквивалентов иона сульфата от 0,5 до 33 ммоль в 100 г почвы; 7,5% – более 3 ммоль в 100 г почвы.

Для анализов используют фильтраты вытяжек, приготовленных по ГОСТ 26423 (см. с. 103).

Весовое определение иона сульфата

Сущность метода заключается в осаждении иона сульфата раствором хлористого бария и взвешивании прокаленного остатка. Для предотвращения осаждения карбоната, фосфата бария и других соединений анализируемую пробу подкисляют соляной кислотой.

Ход анализа

Определение иона сульфата

Отбирают дозатором или пипеткой 20 $см^3$ анализируемой вытяжки в химический стакан. К пробе прибавляют дистиллированную воду до общего объема раствора 40–50 $см^3$, 3 капли раствора метилового красного и подкисляют соляной кислотой, разбавленной 1:3 до кислой реакции, добавив избыток кислоты в 3 – 4 капли. Если при этом раствор мутнеет, его фильтруют через обеззоленный фильтр в чистый химический стакан. Фильтр промывают соляной кислотой, разбавленной 1:100, тремя порциями по 3 – 5 $см^3$.

При анализе темно-окрашенных вытяжек пробу помещают в фарфоровую чашку, выпаривают на водяной бане досуха и прокаливают в муфельной печи в течение 2 ч при температуре 700°С. После охлаждения смачивают прокаленный остаток 1 $см^3$ разбавленной 1:3 соляной кислоты и выпаривают кислоту досуха на водяной бане. Остаток растворяют при нагревании в разбавленной 1:100 соляной кислоте и фильтруют раствор в чистый химический стакан через обеззоленный фильтр. Чашку и фильтр промывают разбавленной 1:100 соляной кислотой, доводя объем фильтрата до 40 – 50 $см^3$.

Стакан с разбавленной и подкисленной пробой вытяжки нагревают до кипения. К горячему раствору прибавляют по каплям 5 $см^3$ раствора хлористого бария с массовой долей 10%, тщательно перемешивая раствор палочкой после прибавления каждой капли. Стакан накрывают часовым стеклом и помещают на кипящую водяную баню на 2 – 3 ч для отстаивания осадка.

Затем делают пробу на полноту осаждения сульфата бария. Для этого в прозрачный отстоявшийся раствор по стенке стакана приливают несколько капель раствора хлористого бария с массовой долей 10%. Если около стенки образуется муть, в раствор добавляют еще 3 $см^3$ раствора хлористого бария, нагревают до кипения и дают осадку отстояться. Затем приступают к фильтрованию. Осадок на фильтре промывают горячей дистиллированной водой, подкисленной соляной кислотой, до прекращения реакции на барий (раствор серной кислоты с массовой долей 10%).

Фильтр с осадком подсушивают на воронке, помещают по взвешен-ный с погрешностью не более 0,001 г фарфоровый тигель и ставят в холодную муфельную печь. Осадок прокаливают в течение 30 мин при температуре 700 – 750°С (при температуре выше 800°С осадок разлагает-ся). Затем тигель охлаждают в эксикаторе и взвешивают с погрешностью не более 0,001 г. Для достижения постоянной массы осадок прокаливают повторно в течение 20 мин при той же температуре.

Таким же образом проводят холостой опыт, взяв вместо пробы вытяжки 20 $см^3$ дистиллированной воды.

Допускается увеличение до 50 $см^3$ или уменьшение до 5 $см^3$ объема пробы вытяжки при условии, что масса образующегося осадка сульфата бария будет 20 – 200 мг.

Обработка результатов

Количество эквивалентов иона сульфата (***X***), ммоль в 100 г почвы, вычисляют по формуле $X = \frac{(m-m_1) \cdot 500}{116,7 \cdot V}$,

где m – масса осадка сульфата бария, мг; m_1 – результат холостого определения, мг; *500* – коэффициент пересчета на 100 г почвы; *116,7* – молярная масса эквивалента сульфата бария, мг/моль; V – объем пробы вытяжки, $см^3$.

Массовую долю иона сульфата в анализируемой почве (X_1) в процентах вычисляют по формуле $X_1 = C \cdot 0,048$, где C – количество эквивалента иона сульфата в почве, ммоль в 100 г; 0,048 – коэффициент пересчета в проценты.

За результат анализа принимают значение единичного определения иона сульфата. Результат анализа выражают в миллимолях в 100 г почвы и в процентах с округлением до трех значащих цифр.

Допускаемые относительные отклонения при доверительной вероятности $P = 0,95$ от среднего арифметического результатов повторных анализов при выборочном статистическом контроле составляют: 14% – для количества эквивалентов иона сульфата св. 1 до 3 ммоль в 100 г почвы; 7% – св. 3 ммоль в 100 г почвы.

Реактивы

1. Раствор бария хлористого 2-водного (ГОСТ 4108. «х.ч.» или «ч.д.а.») с массовой долей 10%.
2. Раствор кислоты серной (ГОСТ 4204, «х.ч.» или «ч.д.а.») раствор с массовой долей 10%.
3. Раствор кислоты соляной (ГОСТ 3118. «х.ч.» или «ч.д.а.») разбавленной дистиллированной водой в отношении 1:3 и 1:100.
4. Метиловый красный, индикатор. «ч.д.а.», раствор. приготовленный (ГОСТ 4919.1).
5. Вода дистиллированная (ГОСТ 6709).

Аппаратура и материалы

1. Весы лабораторные 2-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 200 г по ГОСТ 24104; дозаторы с погрешностью дозирования не более 1% или пипетки 2-го класса точности по ГОСТ 20929.
2. Печь муфельная, обеспечивающая температуру нагрева 700–750°С.
3. Баня водяная.
4. Электроплитка.
5. Воронки стеклянные (ГОСТ 25336).
6. Эксикатор с прокаленным хлористым кальцием.
7. Стаканы химические вместимостью 100 $см^3$ (ГОСТ 25336).
8. Чашки фарфоровые.
9. Стекла часовые.
10. Тигли фарфоровые.
11. Посуда мерная лабораторная 2-го класса точности (ГОСТ 1770).
12. Фильтры обеззоленные «синяя лента» диаметром 7 см.

Турбидиметрическое определение сульфата

Сущность метода заключается в осаждении иона сульфата хлористым барием и турбидиметрическом определении его в виде сульфата бария. В качестве стабилизатора взвеси используют поливиниловый спирт или глицерин.

Метод не применяется для анализа водных вытяжек, окрашенных органическим веществом.

Ход анализа

Определение иона сульфата

Отбирают дозатором или пипеткой по 1 $см^3$ анализируемых вытяжек и растворов сравнения в пробирки. К пробам приливают дозатором или из бюретки по 10 $см^3$ рабочего осаждающего раствора с поливиниловым спиртом или с глицерином и тщательно перемешивают. Фотометрирование взвеси проводят не ранее чем через 10 мин после прибавления осаждающего раствора в кювете с толщиной просвечиваемого слоя 10 мм относительно раствора сравнения № 1, при длине волны 520 мм или используя светофильтр с максимумом пропускания в области 500–540 нм. Перед помещением в кювету фотоэлектроколориметра содержимое пробирки необходимо взболтать. Взвесь оптически устойчива в течение 7 ч.

Допускается пропорциональное изменение объемов пробы, растворов сравнения и осаждающего раствора при погрешности дозирования не более 1%.

Обработка результатов

По результатам фотометрирования растворов сравнения строят градуировочный график. По оси абсцисс откладывают концентрации иона сульфата в растворах сравнения в пересчете в миллимоли в 100 г почвы, а по оси ординат – соответствующие им показания фотоэлектроколориметра.

Количество эквивалентов ионов сульфата в анализируемой почве определяют непосредственно по градуировочному графику. Если результат определения выходит за пределы градуировочного графика, определение повторяют, предварительно разбавив вытяжку дистиллированной водой. Результат, найденный по графику, увеличивают во столько раз, во сколько была разбавлена вытяжка.

Массовую долю иона сульфата в анализируемой почве (X) в процентах вычисляют по формуле $X = C \cdot 0{,}048$, где C – количество эквивалентов иона сульфата в анализируемой почве, ммоль в 100 г; $0{,}048$ – коэффициент пересчета в проценты.

За результат анализа принимают значение единичного определения иона сульфата. Результат анализа выражают в миллимолях в 100 г почвы с округлением до первого десятичного знака и в процентах с округлением до второго десятичного знака

Допускаемые относительные отклонения при доверительной вероятности $P = 0{,}95$ от среднего арифметического результатов повторных анализов при выборочном статистическом контроле составляют: 14% – для количества эквивалентов иона сульфата от 0,5 до 3 ммоль в 100 г почвы; 10% – более 3 ммоль в 100 г почвы.

Реактивы

1. *Запасной осаждающий раствор с поливиниловым спиртом:* 5 г поливинилового спирта и 20 г хлористого бария взвешивают с погрешностью не более 0,1 г и помещают в стакан из термостойкого стекла вместимостью 1000 см^3. Приливают примерно 800 см^3 дистиллированной воды, 60 см^3 раствора соляной кислоты концентрации 1 моль/дм^3 и нагревают смесь при перемешивании до полного растворения реактивов. После охлаждения раствор переносят в мерную колбу вместимостью 1000 см^3, доводят объем до метки дистиллированной водой, перемешивают и фильтруют. Раствор хранят в склянке с притертой пробкой не более 3 мес. В случае помутнения, образования хлопьев, осадка раствор заменяют свежеприготовленным.

2. *Рабочий осаждающий раствор с поливиниловым спиртом:* в день проведения анализа запасной осаждающий раствор разбавляют дистиллированной водой в отношении 2:1.

3. *Осаждающий раствор с глицерином:* взвешивают 20 г хлористого бария 2-водного (ГОСТ 4108) с погрешностью не более 0,1 г и помещают в мерную колбу вместимостью 500 см^3. Приливают примерно 300 см^3 дистиллированной воды и 60 см^3 соляной кислоты в концентрации 1 моль/дм^3. После полного растворения хлористого бария объем раствора доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают. Приготовленный раствор смешивают с глицерином в отношении 1:1. Раствор хранят не более 3 мес.

4. Раствор натрия сернокислого концентрации $c(\frac{1}{2}Na_2SO_4) = 0{,}2$ моль/дм^3 (0,2 н.) Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

5. *Растворы сравнения:* в мерные колбы вместимостью 100 см^3 помещают указанные в таблице объемы раствора 0,2 н. Na_2SO_4. Объемы растворов доводят до меток дистиллированной водой и тщательно перемешивают.

Характеристика раствора	Номер раствора сравнения							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Объем раствора 0,2 н. Na_2SO_4, $см^3$	0	1,0	2,0	4,0	6,0	8,0	10	12
Концентрация иона сульфата $c(1/2\ SO_4)$: в растворах сравнения, $моль/дм^3$	0	0,002	0,004	0,008	0,012	0,016	0,020	0,024
в пересчете на 100 г почвы, ммоль	0	1,0	2,0	4,0	6,0	8,0	10	12

Растворы в склянках с притертыми пробками хранятся не более 1 мес.
Растворы сравнения используют для градуировки фотоэлектроколориметра в день проведения анализа.

6. Раствор трилона Б (щелочной): 30 г трилона Б (соли динатриевой этилендиамин-N,N,N′,N′-тетрауксусной кислоты, 2-водной, ГОСТ 10652, «ч.д.а.»), взвешенного с погрешностью не более 0,1 г, растворяют в 1000 $см^3$ раствора гидроокиси натрия с массовой долей 0,5%. Раствор используют для мытья кювет фотоэлектроколориметра и пробирок, в которых проводят определение. Кюветы и пробирки помещают в раствор на 1 ч.

7. Кислота соляная (ГОСТ 3118, «х.ч.» или «ч.д.а.»), раствор концентрации $c(HCl) = 1\ моль/дм^3$;

8. Поливиниловый спирт, «ч.д.а.», или глицерин (ГОСТ 6259), «ч.д.а.»;

9. Натрия гидроокись (ГОСТ 4328, «ч.д.а.»), раствор с массовой долей 0,5%;

10. Вода дистиллированная (ГОСТ 6709).

Аппаратура и материалы

1. Фотоэлектроколориметр.
2. Весы лабораторные 2-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 200 г и 4-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 500 г (ГОСТ 24104).
3. Дозаторы с погрешностью дозирования не более 1% или пипетки 2-го класса точности по ГОСТ 20929;
4. Пробирки стеклянные диаметром 16 мм и вместимостью не менее 15 $см^3$ по ГОСТу 25336;
5. Посуда мерная лабораторная 2-го класса точности (ГОСТ 1770);

Метод определения натрия и калия в водной вытяжке из засоленных почв (ГОСТ 26427)

Сущность метода заключается в определении интенсивности излучения атомов определяемых элементов с помощью пламенного фотометра. Натрий определяют по аналитическим линиям 589,0 и 589,9 нм, калий – по аналитическим линиям 766,5 и 769,9 нм.

Суммарная относительная погрешность метода составляет: 7,5% – при определении натрия; 10% – при определении калия.

Для анализа используют фильтры вытяжек, приготовленных по ГОСТу 26423 (см. с. 103).

Ход анализа

Пламенный фотометр настраивают на измерение концентрации натрия или калия в соответствии с инструкцией по его эксплуатации. Растворы сравнения и анализируемые вытяжки вводят в пламя и регистрируют показания прибора.

Обработка результатов

По результатам фотометрирования растворов сравнения строят градуировочный график. По оси абсцисс откладывают концентрации натрия или калия в растворах сравнения в пересчете в миллимоли в 100 г почвы, а по оси ординат – соответствующие им показания прибора.

Количество эквивалентов натрия или калия в анализируемых почвах определяют непосредственно по градуировочному графику.

За результат анализа принимают значение единичного определения натрия и калия.

Если результат определения выходит за пределы градуировочного графика, определение повторяют, предварительно разбавив фильтрат дистиллированной водой. Результат, найденный по графику, увеличивают во столько раз, во сколько был разбавлен фильтрат.

Массовую долю натрия в анализируемой почве (X) в процентах вычисляют по формуле $X = C \cdot 0{,}023$, где C – количество эквивалентов натрия в почве, ммоль в 100 г; $0{,}023$ – коэффициент пересчета в проценты.

Массовую долю калия в анализируемой почве (X_1) в процентах вычисляют по формуле $X_1 = C_1 \cdot 0{,}0391$, где C_1 – количество эквивалентов калия в почве, ммоль в 100 г; $0{,}0391$ – коэффициент пересчета в проценты.

Результаты анализы выражают в мг·экв на 100 г почвы и в процентах с округлением до трех значащих цифр.

При проведении массовых анализов вместо построения градуировочного графика допускается градуирование шкалы прибора по растворам сравнения в день проведения анализа.

Допускаемые относительные отклонения при доверительной вероятности $P = 0{,}95$ от среднего арифметического результатов повторных анализов при выборочном статистическом контроле составляют: 11% – для определения натрия; 14% – для определения калия.

Реактивы

1. Раствор натрия концентрации $c(Na^+) = 0{,}1$ моль/дм^3 и калия $c(K^+) = 0{,}01$ моль в 1 дм^3: 5,845 г хлористого натрия (ГОСТ 4233) и 0,746 г хлористого калия (ГОСТ 4234), прокаленных до постоянной массы при температуре 500°С, взвешивают с погрешностью не более 0,001 г, помещают в мерную колбу вместимостью 1000 см^3 и растворяют в дистиллированной воде, доводя объем раствора до метки. Приготовленный раствор тщательно перемешивают.

2. *Растворы сравнения:* в мерные колбы вместимостью 250 см^3 помещают указанные ниже в таблице объемы раствора натрия (0,1 моль/дм^3) и калия (0,01 моль/дм^3) и доводят объемы до меток дистиллированной водой.

Приготовленные растворы тщательно перемешивают. Растворы хранят в склянках с притертыми пробками не более 1 мес.

Характеристика раствора	Номер раствора сравнения						
	1	2	3	4	5	6	7
Объем раствора натрия (0,1 моль /дм^3) и калия (0,01 моль/дм^3)	0	5,0	10	20	30	40	50
Концентрация натрия:							
в растворе сравнения, моль/дм^3	0	0,002	0,004	0,008	0,012	0,016	0,02
в пересчете на 100 г почвы, ммоль	0	1,0	2,0	4,0	6,0	8,0	10
Концентрация калия:							
в растворе сравнения, моль/дм^3	0	0,0002	0,0004	0,0008	0,0012	0,0016	0,002
в пересчете на 100 г почвы, ммоль	0	0,1	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0

Растворы сравнения используют для градуировки пламенного фотометра в день проведения анализа.

3. Вода дистиллированная (ГОСТ 6709).

Аппаратура и материалы

1. Пламенный фотометр с монохроматором или интерференционными светофильтрами с максимумом пропускания в области 588-590 нм для определения натрия и 766-770 нм для определения калия (допускается использование газовой смеси состава пропан-бутан-воздух и сетевой газ-воздух).
2. Весы лабораторные 2-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 200 г и 4-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 500 г по ГОСТ 24104.
3. Посуда мерная лабораторная 2-го класса точности (ГОСТ 1770).
4. Пипетки и бюретки класса точности (ГОСТ 20292).

Определение кальция и магния в водной вытяжке из засоленных почв (ГОСТ 26428)

Комплексонометрический и атомно-абсорбционный методы определения кальция и магния в водной вытяжке из засоленных почв используют при проведении почвенного, агрохимического, мелиоративного обследования угодий, контроля за состоянием солевого режима почв, а также при других изыскательских и исследовательских работах.

Суммарная относительная погрешность, выраженная коэффициентом вариации, составляет:

- для комплексонометрического метода: 12,5% – для количества эквивалентов кальция и магния от 0,5 до 2 ммоль в 100 г почвы; 10% – от 2 до 6 ммоль в 100 г почвы; 5% – более 6 ммоль в 100 г почвы;
- для атомно-абсорбционного метода: 12,5% – для количества эквивалентов кальция от 0,5 до 2 ммоль в 100 г почвы; 10% – св. 2 до 6 ммоль в 100 г почвы; 6% – более 6 ммоль в 100 г почвы; 10% – для количества эквивалентов магния от 0,3 до 2 ммоль в 100 г почвы; 8% – более 2 ммоль в 100 г почвы.

Для анализа используют фильтры вытяжек, приготовленных по ГОСТ 26423 (см. с. 103).

Определение содержания кальция и магния комплексонометрическим методом

Сущность метода заключается в последовательном комплексонометрическом титровании в одной пробе ионов кальция при pH 12,5–13 и ионов магния при pH около 10 с использованием в качестве металлоиндикатора хрома кислотного темно-синего.

Ход анализа

Отбирают дозатором или пипеткой 10 см^3 анализируемой вытяжки в химический стакан или в коническую колбу. Стакан или колбу помещают на магнитную мешалку и при перемешивании приливают 50 см^3 дистиллированной воды, 0,5 см^3 раствора гидроксиламина гидрохлорида с массовой долей 5%, 2 см^3 раствора гидроокиси натрия концентрации 2 моль/дм^3, несколько кристаллов диэтилдитиокарбамата натрия и 5 капель раствора хрома кислотного темно-синего с массовой долей 0,5%. Титруют кальций раствором трилона Б до перехода окраски от розовой к сиреневой и регистрируют расход титранта по бюретке. Затем нейтрализуют оттитрованный раствор соляной кислотой, разбавленной 1:4, до перехода окраски в исходную (розовую) так, чтобы избыток кислоты не превышал 1 – 2 капель. Прибавляют 5 см^3 хлоридно-аммиачного буферного раствора и титруют магний раствором трилона Б до перехода окраски от розовой к синей. По окончании титрования регистрируют расход титранта. Таким же образом титруют холостую пробу.

Допускается увеличение или уменьшение объема пробы для анализа в зависимости от предполагаемого содержания кальция и магния в анализируемой почве.

Для темно-окрашенных вытяжек допускается увеличение до 100 см^3 объема дистиллированной воды, добавляемой к титруемой пробе.

Обработка результатов

Количество эквивалентов кальция или магния в анализируемой почве (***X***), ммоль в 100 г, вычисляют по формуле:

$$X = \frac{(V\text{-}V_1) \cdot c \cdot 500}{V_2},$$

где V – объем раствора трилона Б, израсходованный на титрование кальция или магния, см^3; V_1 – объем раствора трилона Б, израсходованный на титрование кальция или магния в холостой пробе, см^3; c – концентрация раствора трилона Б $c(\frac{1}{2}\ Na_2\ ЭДТА)$, ммоль/см^3; 500 – коэффициент пересчета на 100 г почвы; V_2 – объем пробы анализируемой вытяжки, см^3.

Массовую долю кальция в почве (X_1) в процентах вычисляют по формуле: $X_1 = C \cdot 0{,}020$, где C – количество эквивалентов кальция в анализируемой почве, ммоль в 100 г; $0{,}020$ – коэффициент пересчета в проценты.

Массовую долю магния в анализируемой почве (X_2) в процентах вычисляют по формуле $X_2 = C \cdot 0{,}0122$, где C – количество эквивалентов кальция в анализируемой почве, ммоль в 100 г; *0,0122* – коэффициент пересчета в проценты.

Допускаемые относительные отклонения при доверительной вероятности $P = 0{,}95$ от среднего арифметического результатов повторных анализов при выборочном статистическом контроле составляют: 18% – для количества эквивалентов кальция и магния от 1 до 2 ммоль в 100 г почвы; 14% – от 2 до 6 ммоль в 100 г почвы; 7% – более 6 ммоль в 100 г почвы.

Реактивы

1. Хлоридно-аммиачный буферный раствор. Приготовление см. с. 89, п. 3.

2. Раствор индикатора: 0,5 г хрома кислотного темно-синего, взвешенного с погрешностью не более 0,1 г, помещают в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ и растворяют в этиловом спирте, разбавленном дистиллированной водой 1 : 5, доводя объем раствора до метки. Раствор хранят в склянке оранжевого стекла с притертой пробкой не более 2 мес.

3. Раствор сернокислого магния концентрации с ($½MgSO_4$) = 0,1 моль/$дм^3$ (0,1 н.) Готовят из стандарт-титра. Раствор хранят в склянке с притертой пробкой не более 1 года. В случае помутнения, образования хлопьев, осадка раствор заменяют свежеприготовленным.

4. Раствор трилона Б концентрации c(½Na_2 ЭДТА) = 0,05 моль/$дм^3$ (0,05 н.). Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

Допускается приготовление раствора трилона Б из стандарт-титра c(½ Na_2 ЭДТА) = 0,1 моль/$дм^3$ (0,1 н.).

5. Кислота соляная (ГОСТ 3118, «х.ч.» или «ч.д.а.»), разбавленная дистиллированной водой 1 : 1 и 1 : 4.

6. натрия гидроокись (ГОСТ 4328, «х.ч.» или «ч.д.а.»), раствор концентрации c(NaOH) = 2 моль/$дм^3$ (2 н.).

7. Гидроксиламин гидрохлорид (ГОСТ 5456, «ч.д.а.»), раствор с массовой долей 5%.

8. Диэтилдитиокарбамат натрия (ГОСТ 8864), «ч.д.а.».

9. магний сернокислый, стандарт-титр, с($½MgSO_4$)=0,1 мол/$дм^3$ (0.1 н.).

10. Спирт этиловый ректификированный технический по ГОСТ 18300, разбавленный дистиллированной водой 1 : 5.

11. Вода дистиллированная (ГОСТ 6709).

Аппаратура и материалы

1. Весы лабораторные 2-го класса точности и 4-го класса точности (ГОСТ 24104);

2. Мешалка магнитная;

3. Дозаторы с погрешностью дозирования не более 1% или пипетки и бюретки 2-го класса точности (ГОСТ 20292);

4. Стаканы химические вместимостью 150 $см^3$ или колбы конические вместимостью 250 $см^3$ (ГОСТ 25336).

Определение кальция и магния атомно-абсорбционным методом

Сущность метода заключается в измерении селективного поглощения свободными атомами кальция или магния резонансного излучения, испускаемого лампой с полым катодом, содержащим определяемый элемент. Для атомизации используют пламя ацетилен-воздух или пропан-бутан-воздух.

Для предотвращения образования в пламени труднодиссоциируемых соединений кальция или магния с сопутствующими элементами в анализируемый раствор вводят избыток стронция. Для определения кальция используют аналитическую линию 422,7 нм, магния – 285,2 нм.

Ход анализа

Проведение анализа с использованием газовой смеси состава ацетилен-воздух

Отбирают дозатором или пипеткой по 0,5 $см^3$ анализируемых вытяжек и растворов сравнения в химические стаканы. К пробам прибавляют дозатором или цилиндром по 40 $см^3$ рабочего раствора хлористого стронция. Растворы перемешивают, вводят в пламя и регистрируют показания прибора.

Кальций определяют по поглощению линии 422,7 нм, магний – 285,2 нм.

Проведение анализа с использованием газовой смеси состава пропан-бутан-воздух

Отбирают дозатором или пипеткой по 1 $см^3$ анализируемых вытяжек и растворов сравнения в пробирки. К пробам прибавляют дозатором или из бюретки по 10 $см^3$ рабочего раствора хлористого стронция. Растворы перемешивают, вводят в пламя и регистрируют показания прибора.

При определении магния наконечник горелки ставят под углом 30° к лучу от лампы полого катода, чтобы снизить поглощение и войти в рабочий диапазон прибора.

Допускается пропорциональное изменение объемов пробы вытяжки, растворов сравнения и раствора хлористого стронция при погрешности дозирования не более 1%.

Обработка результатов

По результатам фотометрирования растворов сравнения строят градуировочный график. По оси абсцисс откладывают концентрации кальция или магния в растворах сравнения в пересчете в миллимоли в 100 г почвы, а по оси ординат – соответствующие им показания атомно-абсорбционного спектрофотометра.

Количество эквивалентов кальция или магния в анализируемых почвах находят непосредственно по градуировочному графику.

Если результат измерений выходит за пределы градуировочного графика, определение повторяют, предварительно разбавив вытяжку дистиллированной водой. Результат, найденный по графику, увеличивают во столько раз, во сколько была разбавлена вытяжка.

Массовую долю кальция в почве (X) в процентах вычисляют по формуле: $X = C \cdot 0{,}020$, где C – количество эквивалентов кальция в почве, ммоль в 100 г; *0,020* – коэффициент пересчета в проценты.

Массовую долю магния в почве (X_1) в процентах вычисляют по формуле: $X_1 = C_1 \cdot 0{,}0122$, где C_1 – количество эквивалентов магния в почве, ммоль в 100 г; *0,0122* – коэффициент пересчета в проценты.

При проведении массовых анализов вместо построения градуировочного графика допускается градуирование шкалы прибора по растворам сравнения в день проведения анализа.

Результаты анализа выражают в миллимолях в 100 г почвы и в процентах с округлением до трех значащих цифр.

Допускаемые относительные отклонения при доверительной вероятности $P = 0{,}95$ от среднего арифметического результатов повторных анализов при выборочном статистическом контроле составляют: 18% – для количества эквивалентов кальция до 2 ммоль в 100 г почвы; 14% – от 2 до 6 ммоль в 100 г почвы; 8,5% – более 6 ммоль в 100 г почвы; 14% – для количества эквивалентов магния от 0,5 до 2 ммоль в 100 г почвы; 11% – более 2 ммоль в 100 г почвы.

Реактивы

1. Раствор кальция хлористого концентрации *с (½CaCl)* = 0,05 моль/дм^3 (0,05 н.). Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

2. Раствор магния хлористого концентрации *с* ($½Mg^{2+}$) = 0,025 моль/дм^3 (0,025 н.) Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

3. Раствор стронция хлористого (запасной) массовй концентрации 30 мг/см^3.

4. Раствор стронция хлористого (рабочий): 500 см^3 запасного раствора хлористого стронция смешивают с 4500 см^3 дистиллированной воды. Раствор хранят в склянке с притертой пробкой не более 1 года.

5. *Растворы сравнения для определения кальция и магния: в* мерные колбы

Характеристика раствора	Номер раствора сравнения							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Объем р-ра 0,05 н. *CaCl*, см^3	0	5,0	10	20	30	40	50	60
Объем р-ра 0,025 н. *MgCl*, см^3	0	4	8	16	24	32	40	48
Концентрация кальция с(½ Ca^{2+}):								
в р-ре сравнения, моль/дм^3	0	0,0025	0,005	0,010	0,015	0,0200	0,025	0,030
в 100 г почвы, ммоль	0	1,25	2,5	5,0	7,5	10,0	12,5	15,0
Концентрация магния с(½Mg^{2+}):								
в р-ре сравнения, моль/дм^3	0	0,001	0,002	0,004	0,006	0,008	0,010	0,012
в 100 г почвы, ммоль	0	0,5	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0

вместимостью 100 см^3 помещают указанные в таблице объемы раствора хлористого кальция концентрации 0,05 моль/дм^{3}и хлористого магния концентрации 0,025 моль/дм^3. Растворы сравнения используют для градуировки атомно-абсорбционного спектрофотометра в день проведения анализа.

6. Кальций углекислый (ГОСТ 4530, «х.ч.»).

7. Кислота соляная (ГОСТ 3118, «х.ч.» или «ч.д.а.»), концентрированная и раствор с массовой долей 25%;

8. Вода дистиллированная по ГОСТу 6709.

Аппаратура, материалы и реактивы

1. Атомно-абсорбционный спектрофотометр с лампами полого катода для определения кальция и магния (допускается использование газовой смеси состава ацетилен- воздух или пропан-бутан-воздух).

2. Весы лабораторные 2-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 200 г и 4-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 500 г (ГОСТ 24104).

3. Дозаторы с погрешностью дозирования не более 1% или пипетки и бюретки 2-го класса точности (ГОСТ 20292).

4. Посуда мерная лабораторная 2-го класса точности (ГОСТ 1770).

5. Пробирки вместимостью 25 см^3 (ГОСТ 25336) или другие емкости, устойчивые к действию применяемых реактивов.

6. Стаканы химические вместимостью 100 см^3 (ГОСТ 25336).

Определение степени солонцеватости почв

Основные физико-химические, физические и другие свойства солонцеватых почв и солонцов обусловлены присутствием ионов натрия в почвенном поглощающем комплексе. Пептизация ППК под воздействием ионов натрия приводит к тому, что они очень плотны в сухом состоянии и расплываются в бесструктурную клейкую и вязкую массу при увлажнении. Вследствие сильной вязкости солонцы очень долго не просыхают, а после высыхания снова становятся плотными и плохо впитывают осадки. Высокая плотность солонцовых горизонтов в сухом состоянии и вязкость во влажном препятствуют нормальной механической обработке их, затрудняют проникновение корней растений и влаги в нижележащие горизонты, резко ухудшают водный и воздушный режим почвы.

Кроме того, присутствие в поглощающем комплексе солонцов натрия создает возможность образования в почвенном растворе соды, что делает эти почвы особенно неблагоприятными для сельскохозяйственного использования.

Для улучшения солонцовых почв их гипсуют. При взаимодействии с почвой катионы кальция гипса вытесняют натрий из поглощающего комплекса:

$$[ППК]Na^{+} + CaSO_4 \rightarrow [ППК]Ca^{2+} + Na_2SO_4.$$

При последующих промывках прогипсованного солонца ионы натрия, перешедшие в почвенный раствор, удаляют за пределы почвенного профиля.

Содержание поглощенного натрия в почве может быть определено в принципе в любой вытяжке, используемой для вытеснения катионов из ППК насыщенных основаниями почв. Здесь предлагается специфический метод определения ионов натрия в ППК, в котором для его вытеснения используется раствор гипса, т.е. соединение, применяемое для химической мелиорации этих почв. Таким образом, получаемые результаты могут использоваться не только для установления содержания поглощенного натрия в почвах и степени их солонцеватости, но и для расчета норм гипса.

Определение поглощенного натрия в солонцовых почвах по методу Антипова-Каратаева и Мамаевой

Принцип метода. Навеску почвы обрабатывают определенным количеством титрованного раствора гипса, кальций которого вытесняет натрий из поглощающего комплекса в раствор.

Не израсходованный на вытеснение натрия кальций гипса осаждают известным объемом титрованного раствора щелочной смеси ($2Na_2CO_3 + NaOH$). Кальций осаждается Na_2CO_3 в виде $CaCO_3$, а магний, присутствующий в вытяжке, – NaOH щелочной смеси в виде $Mg(OH)_2$. Избыток ее оттитровывают кислотой.

По разности между взятым объемом щелочной смеси и количеством кислоты, пошедшей на титрование ее избытка, устанавливают количество щелочной смеси, эквивалентное количеству осажденного кальция гипса, не израсходованного на вытеснение поглощенного натрия. Количество же последнего эквивалентно пошедшему на его вытеснение кальцию и определяется по разности между содержанием кальция в исходном растворе гипса и в растворе после установления равновесия с почвой.

При применении этого метода следует учитывать ряд обстоятельств:

- Во-первых, в связи с тем что поглощенный натрий в описанном методе определяют по количеству идущего на его вытеснение кальция гипса, этот метод непригоден для почв, содержащих гипс.
- Во-вторых, кальций гипса одновременно с натрием вытесняет и калий, поэтому данным методом фактически определяют сумму поглощенных натрия и калия. Результат будет более точным, если отдельно определить обменный калий, а затем вычесть его из полученных результатов анализа.

♦ В-третьих, часть кальция гипса в приведенном методе расходуется на вытеснение эквивалентного количества обменного магния, но, в свою очередь, вытесненный магний осаждается вместе с остатком неизрасходованного кальция и, следовательно, в расчет не принимается. Однако при наличии в анализируемых почвах водорастворимой соли $MgSO_4$ часть щелочной смеси будет расходоваться и на осаждение этой соли, и в результат анализа нужно вносить поправки.

Кроме того, если в почве присутствуют карбонаты щелочных металлов, например Na_2CO_3, то часть кальция раствора гипса будет затрачиваться на взаимодействие с ними, и необходимо делать поправку на величину общей щелочности водной вытяжки.

Ход анализа

Пробу почвы для анализа растирают и просеивают через сито с отверстиями 0,25 мм. Навеску (5 г при ожидаемом содержании обменного натрия в почве более 20% емкости поглощения; 10 г – при 10–20%) помещают в колбу емкостью 250 – 500 $см^3$, приливают из бюретки или пипетки точно 200 $см^3$ титрованного раствора гипса, закрывают пробкой и оставляют на двое суток, периодически (через каждые 1 – 2 часа) перемешивая ее содержимое. Затем суспензию фильтруют через плотный беззольный фильтр.

В термостойкую мерную колбу на 200 $см^3$ переносят пипеткой 100 $см^3$ фильтрата, нагревают его до кипения и, не охлаждая, приливают к нему 75 $см^3$ щелочной смеси, добавляя последнюю, во избежание разбрызгивания вначале отдельными каплями; в колбе появляется белый осадок карбоната кальция и гидрата окиси магния.

Раствор с выпавшим осадком кипятят 2 – 3 мин, потом нагревают еще 15 – 20 мин (для лучшей коагуляции осадка) на электроплитке с небольшим нагревом. Закончив нагревание, раствор охлаждают сначала на воздухе, а затем погружением колбы в кристаллизатор или другую посуду с холодной водой.

Охлажденный раствор доводят до метки дистиллированной водой, не содержащей CO_2, и быстро, во избежание взаимодействия углекислого газа воздуха с осадком и его частичного растворения, фильтруют. Необходимо обращать внимание на то, чтобы фильтрат был совершенно прозрачным; если образуется осадок $CaCO_3$, кислота будет расходоваться и на реакцию с этим соединением, что приведет к искажению результатов.

100 $см^3$ фильтрата пипеткой переносят в коническую колбочку и титруют 0,1 н. раствором HCl в присутствии метилоранжа до перехода окраски раствора от желтой к слабо-розовой.

Вычисление результатов анализа ведут по формуле:

$$Na^{+}\ \frac{ммоль(+)}{100\ г\ почвы} = \frac{(N_{Ca} - 1/V_{ал}(N_{щ} V_{щ} - N_{к} V_{к} \cdot V_1/V_2))\ V_0 \cdot 100}{m} - C,$$

где N_{Ca} – нормальность раствора гипса, ммоль/л; V_0 – общий объем раствора гипса, взаимодействующего с почвой, см^3; $V_{ал}$ – аликвота вытяжки после взаимодействия почвы с раствором гипса, см^3; $N_{щ}$ – нормальность щелочной смеси, ммоль/л; $V_{щ}$ – объем щелочной смеси, взаимодействующей с остатком гипса в фильтрате, после вытеснения Na^+ из почвы, см^3; V_1 – объем колбы, в которой проводится осаждение избытка кальция щелочной смесью, см^3; V_2 – объем аликвоты фильтрата после осаждения избытка кальция щелочной смесью, взятой для титрования кислотой, см^3; $N_к$ – нормальность раствора HCl, ммоль/л; $V_к$ – объем кислоты, пошедшей на титрование избытка щелочной смеси, см^3; m – навеска почвы, г; C – общая щелочность, в ммоль(-)/100 г почвы.

Оценка степени солонцеватости почв

О степени солонцеватости почвы судят по содержанию поглощенного натрия в почвенном поглощающем комплексе. Для этого количество поглощенного натрия выражают в процентах от емкости поглощения, то есть находят, какую часть ее занимает натрий.

Процент солонцеватости вычисляют по формуле:

$$\%\ Na_{обм} = \frac{Na^{+}\ ммоль(^{+})/100\ г}{T} \cdot 100,$$

где T – емкость поглощения в мг-экв на 100 г почвы.

По классификации И.Н. Антипова-Каратаева если в горизонте В содержится меньше 5% поглощенного натрия от емкости поглощения, то почва считается несолонцеватой, 5 – 10% – слабосолонцеватой, 10 – 20% – солонцеватой, больше 20% – солонцом.

Расчет нормы гипса

При расчетах норм гипса исходят из количества поглощенного натрия в почве. Почвы, содержащие меньше 5% натрия от емкости поглощения, не гипсуют, так как такое содержание натрия в поглощающем комплексе существенного отрицательного влияния на рост растений не оказывает. Нормы гипса в связи с этим чаще всего рассчитывают по активному натрию, т.е. по его количеству, превышающему 5% от емкости поглощения.

Норму гипса рассчитывают по количеству натрия, содержащегося в той части солонцового горизонта, который подвергается обработке (вспашке). Вес ее определяют по уравнению:

$$B = (h_{max} - h_A) \cdot 10^8 \cdot d,$$

где B – вес подлежащей гипсованию части солонцового горизонта на площади 1 га, г; h_{max} – глубина вспашки, см; h_A – мощность гумусового горизонта, см; d – объемный вес почвы солонцового горизонта, г/см^3; 10^8 – площадь 1 га в см^2.

Норму гипса на 1 га рассчитывают по уравнению:

$$H, \text{ т/га} = \frac{Na^+ \text{ ммоль(+)/100г} \cdot B \cdot 86{,}08}{100 \cdot 10^9},$$

где *86,08* – эквивалента гипса, г/ммоль; 10^9 – количество мг в 1 т.

Реактивы

1. Раствор гипса: навеску химически чистого гипса массой 3 г растворяют в 1 дм^3 дистиллированной воды в течение 3 – 4 часов при частом помешивании и фильтруют через плотный фильтр. Берут аликвоту фильтрата (100 см^3) и осаждают в ней кальций щелочной смесью (как описано в методе).

Избыток щелочной смеси оттитровывают 0,1 н. HCl. Нормальность раствора гипса (N_{Ca}) находят по уравнению

$$N_{Ca} = (N_{щ} V_{щ} - N_к V_к) : V_{ал},$$

где $N_{щ}$ – нормальность щелочной смеси, ммоль/л; $V_{щ}$ – объем щелочной смеси, взаимодействующей с гипсом в фильтрате, см^3; $N_к$ – нормальность раствора HCl, ммоль/л; $V_к$ – объем кислоты, пошедшей на титрование избытка щелочной смеси, см^3.

2. Щелочная смесь: готовят отдельно точно 0,1 н. растворы Na_2CO_3 и NaOH. Перед осаждением кальция растворы соды и щелочи смешивают в объемных соотношениях 2 : 1.

3. 0,1 н. раствор HCl.

4. Метилоранж.

5. Вода дистиллированная без CO_2.

Аппаратура, материалы и реактивы

1.Электроплита.

2. Весы лабораторные.

3. Пипетки или бюретки.

4. Посуда мерная лабораторная 2-го класса точности (ГОСТ 1770).

5. Конические колбы на 200 – 500 см^3.

6. Стаканы химические вместимостью 100 см^3 (ГОСТ 25336).

7. Кристаллизатор или посуда с холодной водой.

8. Плотные беззольные фильтры.

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ АЗОТА В ПОЧВЕ

Азот входит в состав органических веществ почвы. Валовое содержание азота в поверхностном горизонте почв колеблется в пределах 0,10 – 0,85%. На долю минеральных форм приходится 1 – 3% общего содержания азота.

Содержание азота в гумусе для всех почв, кроме каштановых, сероземов и краснозёмов, равно примерно 5% (т.е. составляет 1/20 часть). В почвенных горизонтах с высоким содержанием органического вещества наблюдается определенное соотношение C:N, которое служит показателем обогащения гумуса азотом.

Методы определения общего азота (ГОСТ 26107)

Предлагаемые методы определения общего азота в почвах применяются при выполнении массовых почвенных, агрохимических и мелиоративных обследований и при оценке пригодности нарушенного плодородного слоя почв для землевания.

Стандарт не распространяется на почвы с массовой долей органического вещества более 25%.

Пробы почвы для анализов должны храниться в помещении, свободном от паров аммиака, и должны быть предварительно доведены до воздушно-сухого состояния, измельчены, пропущены через сито с круглыми отверстиями диаметром 1 – 2 мм, хорошо перемешаны и распределены по ровной поверхности слоем толщиной не более 1 см. Аналитическую пробу массой 15 г отбирают ложкой или шпателем не менее чем из пяти разных мест, равномерно расположенных по площади, на всю глубину слоя, выбирают из нее видимые глазом корни и полностью пропускают через плетеное проволочное сито с отверстиями ячеек 0,25 мм. Частицы, оставшиеся на сите, измельчают с помощью любых устройств и снова пропускают через сито.

Из аналитической пробы берут две навески почвы для определения гигроскопической влаги (ГОСТ 5180).

Титриметрический метод

Ход анализа

Разложение почвы. Для почв с массовой долей гумуса более 2% берут навеску 2,000 г, для почв с массовой долей гумуса менее 2% – 4,0 г. Навеску берут на лабораторных весах и помещают в сухую колбу Кьельдаля вместимостью 100 $см^3$. В колбу вносят меркой 4,5 г сухой

смеси катализаторов, приливают дозатором 10 $см^3$ концентрированной серной кислоты и перемешивают круговыми движениями, пока вся почва не будет смочена кислотой. Колбу помещают в наклонном положении на электронагреватель в вытяжной шкаф и постепенно доводят содержимое колбы до кипения. Нагрев регулируют так, чтобы пары серной кислоты конденсировались в нижней трети горла колбы. Озоление органического вещества считают полным, когда произошло полное обесцвечивание надосадочной жидкости. После этого кипячение продолжают еще 15 – 20 мин, затем оставляют для охлаждения при комнатной температуре. Одновременно проводят контрольный анализ без почвы.

Определение азота. После разложения почвы колбу Кьельдаля слегка наклоняют и приливают в нее небольшими порциями при перемешивании круговыми движениями 30 – 40 $см^3$ дистиллированной воды. Суспензии дают отстояться 1 мин и затем переливают надосадочную жидкость в отгонную колбу – плоскодонную колбу из термостойкого стекла вместимостью 1000 $см^3$. Операцию повторяют несколько раз, доводя объем жидкости до половины объема отгонной колбы.

В коническую колбу-приемник вместимостью 250 $см^3$ вливают мерным цилиндром 20 $см^3$ раствора с массовой долей борной кислоты 2%. Добавляют 3 капли смешанного индикатора и присоединяют приемник к шариковому холодильнику через аллонж таким образом, чтобы конец аллонжа был погружен в раствор борной кислоты на 3 – 5 мм. В отгонную колбу с раствором, осторожно наклонив ее, по стенке горла колбы приливают 80 $см^3$ раствора с массовой долей гидроокиси натрия 40%. Жидкости в колбе при этой операции не должны перемешиваться. Не взбалтывая раствор, отгонную колбу присоединяют через стеклянный каплеуловитель к шариковому холодильнику. После этого содержимое колбы тщательно перемешивают круговыми движениями. Допускается приливание гидроокиси натрия через капельную воронку. В этом случае отгонную колбу с раствором сначала присоединяют к дистилляционному устройству, а затем открывают кран капельной воронки для введения гидроокиси натрия.

После того как дистилляционное устройство собрано и обеспечена его герметичность, пропускают водопроводную воду через холодильник. Включают нагревательный прибор и нагревают раствор в отгонной колбе до кипения. Когда раствор из приемника начнет засасываться в аллонж, колбу-приемник опускают так, чтобы конец аллонжа был выше уровня жидкости в приемнике. Отгонку продолжают до тех пор, пока объем дистиллята в приемнике не достигнет 150 $см^3$. Раствор в приемнике титруют раствором серной кислоты (0,02 моль/$дм^3$) до изменения зеленой окраски индикатора на красно-фиолетовую. Одновременно проводят контрольный анализ на чистоту реактивов.

Фотометрический метод «индофеноловой зелени» (модификация ЦИНАО)

Разложение почвы. Навеску почвы 0,200 г берут на лабораторных весах и помещают в термостойкую пробирку вместимостью 50 $см^3$. В пробирку по стенке приливают 2 $см^3$ раствора с массовой долей перекиси водорода 30%, смачивая ею всю навеску почвы. Через 2 мин дозатором приливают 3 $см^3$ концентрированной серной кислоты, содержащей селен. Содержимое пробирки перемешивают круговыми движениями, ставят в устройство для нагревания пробирок, помещают его в вытяжной шкаф и постепенно нагревают пробирки до 400°С. Озоление ведут при этой температуре до полного обесцвечивания раствора. Затем раствор оставляют для охлаждения при комнатной температуре и доливают дистиллированной водой до метки на пробирке. При отсутствии термостойких пробирок или нагревательного устройства допускается использование колб Кьельдаля вместимостью 50 $см^3$. В этом случае после озоления органического вещества раствор количественно переносят в мерные колбы вместимостью 50 $см^3$ и доливают дистиллированной водой до метки. Одновременно проводят контрольный анализ без почвы.

Определение азота. 1 $см^3$ прозрачного раствора, полученного при разложении почвы, переносят дозатором в сухую плоскодонную или коническую колбу вместимостью 100 $см^3$. К раствору добавляют дозатором 45 $см^3$ рабочего окрашивающего реактива и 2,5 $см^3$ рабочего раствора гипохлорита. После добавления каждого реактива раствор перемешивают. Колбу с раствором оставляют на 1 ч для образования устойчивой окраски. Оптическую плотность окрашенного раствора измеряют относительно нулевого раствора в кювете с толщиной поглощающего слоя 1 см при длине волны 655 нм.

Обработка результатов.

При *титриметрическом методе* азот рассчитывают по количеству серной кислоты, затраченной на титрование бората аммония. Общий азот в почве (N_T) в процентах вычисляют по формуле

$$N_T = V \cdot c \cdot 0{,}014 \cdot 100 : m = 1{,}4\ V \cdot c : m,$$

где V – объем серной кислоты, затраченной на титрование, $см^3$; c – молярная концентрация серной кислоты, моль/$дм^3$; $0{,}014$ – молярная масса азота, г/ммоль; m – масса сухой почвы, г; 100 – коэффициент пересчета на 100 г почвы.

Из полученного результата вычитают количество азота, найденное в контрольном анализе.

При *фотометрическом методе* строят градуировочный график. При построении графика по оси ординат откладывают величины измеренных оптических плотностей в растворах сравнения, по оси абсцисс –

соответствующие количества азота 0; 0,001; 0,002; 0,003; 0,004; 0,006; 0,008; 0,012 мг. Градуировочный график строят в день анализа так, чтобы прямая проходила как можно ближе к точкам, полученным в результате единичного измерения растворов сравнения. По графику находят количество азота в миллиграммах в анализируемом объеме раствора. Общий азот в почве ($N_Ф$) в процентах вычисляют по формуле

$$N_Ф = a \cdot V_1 \cdot 100 : (m \cdot V_2 \cdot 1000) = a \cdot V_1 : (m \cdot V_2 \cdot 10),$$

где a – количество азота в анализируемом объеме, найденное по графику, мг; V_1 – общий объем раствора после разложения почвы, см^3; V_2 – объем раствора, взятый для анализа, см^3; m – масса сухой почвы, г; 100 – коэффициент пересчета на 100 г почвы; *1000* – коэффициент пересчета миллиграммов в граммы.

Массу сухой почвы (m) в граммах вычисляют по формуле

$$m = \frac{m_1}{1 + 0{,}01 \cdot W_г},$$

где m_1 – масса воздушно-сухой почвы, г; $W_г$ – гигроскопическая влага,%.

За окончательный результат принимают единичные определения. Допускаемые расхождения между результатами двух анализов при оперативном контроле воспроизводимости измерений в одной пробе, выполненных в одной лаборатории (d) и разных лабораториях (D) с доверительной вероятностью P = 0,95 не должны превышать значений

$$d = 0{,}006 + 0{,}08 \cdot X; \qquad D = 0{,}07 + 0{,}11 \cdot X,$$

где X – среднее арифметическое значение сравниваемых результатов измерений, %.

Реактивы

1. Смесь катализаторов для разложения почвы. Смешивают 150,0 г безводного сернокислого калия; 0,25 г металлического селена (ГОСТ 5455, «х.ч.»), 10,0 г сернокислой меди (ГОСТ 4165) и тщательно растирают в фарфоровой ступке.

2. Серная кислота, содержащая селен. Растертый металлический селен (ГОСТ 5455, «х.ч.») растворяют при нагревании в концентрированной серной кислоте из расчета 1 г селена на 200 см^3 кислоты.

3. Раствор гидроокиси натрия с массовой долей 40%, не содержащий аммиак. О содержании аммиака в растворе гидроокиси натрия свидетельствует желтое окрашивание при прибавлении реактива Несслера. Для удаления аммиака раствор кипятят, затем охлаждают и доводят до нужной концентрации.

4. Смешанный индикатор. Смешивают равные объемы спиртового раствора с массовой долей метилового красного (ГОСТ 5853) 0,4% и спиртового раствора с массовой долей метиленового голубого 0,2% или готовят по ГОСТ 4919.1.

5. Раствор аммония хлористого (ГОСТ 3773) с массовой концентрацией азота 0,1 мг/см^3. Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

6. Запасной окрашивающий раствор на присутствие аммиака. Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

7. Рабочий окрашивающий раствор готовят в день анализа. К 250 $см^3$ запасного окрашивающего раствора добавляют 1750 $см^3$ дистиллированной воды без аммиака, 250 $см^3$ раствора гидроокиси натрия с молярной концентрацией 2 $моль/дм^3$, 4,5 г трилона Б и хорошо перемешивают.

8. Запасной раствор натрия гипохлорита. Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

9. Рабочий раствор гипохлорита натрия готовят в день анализа. Запасной раствор разбавляют дистиллированной водой без аммиака до массовой концентрации свободного хлора 0,12 г в 100 $см^3$.

10. Серия растворов сравнения для фотометрического определения азота. В мерные колбы вместимостью 250 $см^3$ из бюретки наливают разные количества раствора хлористого аммония с массовой концентрацией азота 0,1 $мг/см^3$: 0; 2,5; 5,0; 7,5; 10,0; 15,0; 20,0; 30,0 $см^3$. В каждую колбу до половины объема приливают дистиллированную воду без аммиака и по 7 $см^3$ концентрированной серной кислоты, содержащей селен. Растворы охлаждают, доливают водой до метки и перемешивают.

11. Растворы шкалы сравнения. Шкалу сравнения готовят в день анализа. Из каждой колбы серии растворов сравнения дозатором берут 1 $см^3$ раствора и переносят в сухую плоскодонную или коническую колбу вместимостью 100 $см^3$. Далее проводят все операции, как с раствором после разложения почвы при фотометрическом методе.

12. Кислота борная по ГОСТ 9656, «х.ч.», раствор с массовой долей 2%.

13. Кислота серная (ГОСТ 4204), концентрированная, раствор концентрации $c(½H_2SO_4) = 0,02$ моль/л.

14. Калий йодистый (ГОСТ 4232), раствор с массовой долей 2%.

15. Натрия тиосульфат (ГОСТ 244), раствор с $(½Na_2S_2O_3) = 0,1$ моль/л.

16. Натрия гидроокись (ГОСТ 4328), раствор c (NaOH) = 2 моль/л.

17. Перекись водорода (ГОСТ 10929), раствор с массовой долей 30%.

18. Натрий углекислый безводный (ГОСТ 83).

19. Реактив Несслера (ГОСТ 4517). Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

20. Соль динатриевая этилендиамин-N,N,N',N',-тетрауксусной кислоты, 2-водная (трилон Б) (ГОСТ 10652).

21. Спирт этиловый ректифицированный технический (ГОСТ 18300), высшего сорта.

22. Вода дистиллированная (ГОСТ 6709), без следов аммиака.

Аппаратура и материалы

1. Фотоэлектроколориметр (ГОСТ 12083) или другие аналогичные приборы позволяющие работать в интервале длин волн 630 – 655 нм.
2. Плитка электрическая (ГОСТ 306) или колбонагреватель.
3. Устройство для нагревания колб Кьельдаля.
4. Устройство для нагревания пробирок с температурой нагрева не менее 400°С и глубиной погружения не менее 5 см.
5. Сито с сеткой 025 (ГОСТ 3584).
6. Мерка, вмещающая 4,5 г сухой смеси катализаторов.
7. Весы лабораторные 2-го класса точности с предельной нагрузкой 200 г и весы лабораторные 4-го класса точности с предельной нагрузкой 1 кг (ГОСТ 24104).
8. Колбы мерные (ГОСТ 1770), наливные.
9. Цилиндры мерные (ГОСТ 1770), наливные.

10. Колбы плоскодонные, конические Кьельдаля (ГОСТ 25336).
11. Дистилляционное устройство, каплеуловитель, холодильник шариковый, аллонж изогнутый, воронка капельная (ГОСТ 25336).
12. Дозаторы ШД-115 и ДАЖ-115 или бюретки и пипетки (ГОСТ 20292), 2-го класса точности.
13. Стаканы и пробирки стеклянные по ГОСТ 25336.
14. Стаканы, чашки выпарительные, ступки и пестики фарфоровые (ГОСТ 9147).

Колориметрические методы определения общего азота в почве

Предлагаемые ниже колориметрические методы аналогичны приведенным по ГОСТу 26107, но более удобны для проведения учебных практических лабораторных занятий.

Метод с реактивом Несслера

В основу метода положено взаимодействие иона аммония со щелочным раствором ртутно-иодистого калия с образованием нерастворимого иодистого меркураммония.

Метод очень чувствителен. Предельная концентрация, допускающая определение аммония, не должна превышать 0,15 $см^3$ азота в 100 $см^3$ раствора. Определению мешают катионы металлов. Для устранения этого в вытяжку перед добавлением реактива Несслера вносят комплексообразующий реактив.

Ход анализа

Навеску почвы от 1,000 до 3,000 г (в зависимости от массовой доли гумуса) берут с помощью стеклянной пробирки, на дно которой надевают резиновую трубку, чтобы навеску легко можно было перенести на дно колбы Кьельдаля. Точную массу навески определяют по разности между весом пробирки с почвой и весом пустой пробирки. Сжигание проводят, как описано на с. 138 – 139.

После окончания сжигания образца почвы по методу Кьельдаля содержимое колбы количественно переносят при помощи дистиллированной воды в мерную колбу на 200 – 250 $см^3$. Доливают содержимое колбы водой до метки, перемешивают и оставляют на несколько часов до полного осаждения осадка (лучше на ночь). Берут аликвоту (1 – 10 $см^3$) в мерную колбу на 100 $см^3$, доводят объем до 20 – 30 $см^3$ водой и приливают 10 $см^3$ комплексообразующего реактива.

Нейтрализуют раствор 2 н. раствором NaOH по универсальной индикаторной бумаге. Раствор должен быть нейтральным или слабощелочным. Сразу после прибавления щелочи в колбу вносят 2 $см^3$ реактива Несслера, доводят объем раствора до метки дистиллированной безаммиачной водой, хорошо перемешивают и через 10 – 15 мин измеряют оптическую плотность раствора.

Максимум светопоглощения при длине волны 400 нм.

Рассчитывают общий азот (%) по формуле $N = \frac{a \cdot p \cdot 100}{H \cdot 1000}$,

где a – количество азота, полученное после колориметрирования, мг; p – разведение; H – навеска почвы, мг.

Реактивы

1. Комплексообразующий реактив: смешать 500 см^3 40%-ного раствора сегнетовой соли, 500 см^3 10%-ного раствора ЭДТА (трилон Б) и 50 см^3 40%-го раствора NaOH.

2. Эталонный раствор на азот (0,1 мг азота в 1 см^3 раствора): 0,3820 г высушенного до постоянного веса при 100°С «х.ч.» NH_4Cl или 0,4720 г $(NH_4)_2SO_4$ поместить в мерную колбу на 1 дм^3, растворить в небольшом количестве безаммиачной воды и довести до метки, тщательно перемешать. Рабочий эталонный раствор получают разбавлением запасного раствора в 10 раз и используют для приготовления образцовых растворов для построения калибровочной кривой.

Форма записи

Вариант опыта	№ колбы	Навеска в мг	Азот, по шкале, мг	p (разведение)	N (общий азот), в%

Пример вычисления

Навеска почвы для определения азота в пересчете на высушенную при 100–105°С равна 0,7513 г. После сжигания содержимое колбы Кьельдаля перенесено в мерную колбу на 100 см^3.

На определение азота колориметрическим методом взято 10 см^3 раствора из этой колбы, что соответствует 0,07513 г почвы.

По калибровочному графику найдено, что оптическая плотность испытуемого раствора равна 0,23, соответствует концентрации 0,025 мг. Следовательно, содержание азота в процентах равно

$$\%\,N = \frac{0{,}025 \cdot 100}{0{,}07513 \cdot 1000} = 0{,}08\%.$$

Феноловый метод

В основу метода положена реакция Бертло, в результате которой при взаимодействии аммиака с фенолом в присутствии окислителя гипохлорита натрия образуется индофенол, окрашивающий раствор в щелочной среде в синий цвет. Чувствительность метода такая же, как при использовании реактива Несслера.

Ход анализа

После минерализации образца почвы по методу Кьельдаля (см. с. 138 – 139) содержимое колбы переносят в мерную колбу на 200 см^3, доливают водой до метки и оставляют до осветления раствора. Аликвоту прозрачной вытяжки с содержанием азота в пределах 0,01 – 0,15 мг

помещают в мерную колбу на 100 $см^3$, разбавляют водой до 20 – 30 $см^3$ и приливают 10 $см^3$ комплексообразующего реактива для связывания катионов металлов.

Вносят 1 – 2 капли метилрота и нейтрализуют раствор 1 н. NaOH до изменения красного цвета индикатора в желтый. Приливают из бюретки 5 $см^3$ комбинированного реактива и 1 $см^3$ 1%-го гипохлорита натрия. Колбу ставят в темное место на 1 ч для образования окраски.

Раствор в колбе доводят до метки водой, тщательно перемешивают и определяют его оптическую плотность.

Максимум светопоглощения при длине волны 625 нм.

Расчет содержания азота см. на предыдущей странице.

Реактивы

1. Комплексообразующий реактив. Приготовление см. на предыдущей странице.
2. Комбинированный реактив: в мерную колбу на 1 $дм^3$ поместить 18 г NaOH, прилить 250 – 300 $см^3$ воды и 20 $см^3$ расплавленного фенола. Раствор охладить до комнатной температуры и ввести 280 мг нитропрусида натрия, который является катализатором реакции образования индофенола. Реактив хранить в холодильнике в посуде из темного стекла.
3. Гипохлорит натрия (*). Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.
4. Рабочий раствор гипохлорита должен содержать 1% активного хлора. Реактив хранить в холодильнике в темной посуде, срок годности 1 месяц.

Определение легкогидролизуемого азота по Тюрину и Кононовой в модификации Кудеярова

Метод основан на допущении, что раствор серной кислоты извлекает из почвы ту часть азотсодержащих органических соединений, которые легко минерализуются в природных условиях и служат ближайшим источником минерального азота, используемого растениями. Метод предусматривает учет азота нитратов, поглощенного аммония и легкогидролизуемых органических соединений.

Ход анализа

20 г воздушно-сухой почвы, растертой и пропущенной через сито с диаметром отверстий 1 мм, помещают в коническую колбу на 200 $см^3$, добавляют 100 $см^3$ 0,5 н. H_2SO_4, затем 3 мин. взбалтывают и настаивают 16 – 18 ч.

Отфильтровывают через складчатый фильтр с синей лентой. Берут 25 – 50 $см^3$ фильтрата в коническую колбу на 100 $см^3$, прибавляют 0,16 г цинковой пыли для проведения восстановления нитратов до аммиака. Для ускорения этой реакции вносят 1 – 2 капли 10%-го водного раствора $CuSO_4$. Колбу закрывают пробкой-холодильником или маленькой воронкой и помещают в термостат при температуре 90 – 100°С на 1,5 – 2,0 ч,

считая с момента нагрева колбы. О конце восстановления нитратов можно судить по окончанию растворения цинковой пыли.

Колбу охлаждают, прибавляют 5 $см^3$ концентрированной серной кислоты (d - 1,84) и 0,5 г сульфата калия, ставят на электроплитку. Раствор нагревают до обильного выделения белых паров воды с окислами серы и потемнения жидкости в колбе.

Колбу охлаждают и приливают 1 $см^3$ 30%-го раствора перекиси водорода, снова ставят на плитку и проводят сжигание до полного обесцвечивания жидкости. Если спустя 10 – 15 мин от начала кипения содержимое колбы полностью не обесцветится, колбу охлаждают и прибавляют еще 1 $см^3$ перекиси.

После озоления пробы раствор из колбы переносят количественно в мерную колбу на 100 $см^3$. Берут 10 – 20 $см^3$ вытяжки в колбу на 100 $см^3$, доводят объем до 20 – 30 $см^3$, приливают 10 $см^3$ комплексообразующего реактива для связывания Ca, Mg, Fe, Al, Cu, Zn. Прибавляют 1 – 2 капли метилрота и проводят нейтрализацию раствора 1н. NaOH.

Нередко случается, что в процессе нейтрализации метилрот обесцвечивается – это создает ложное представление о конце нейтрализации, поэтому после некоторого прибавления щелочи следует добавить еще 2-3 капли индикатора и продолжать нейтрализацию.

Прибавляют 5 $см^3$ комбинированного реактива и 1 $см^3$ 1%-го раствора гипохлорита натрия. Колбу оставляют в темном месте на 1 ч для развития окраски.

Раствор в колбе доводят водой до метки и определяют оптическую плотность при длине волны 625 нм.

Количество легкогидролизуемого азота (в мг/100 г почвы) определяют по формуле

$$N = \frac{a \cdot p \cdot 100}{H},$$

где a – количество азота, найденное, при колориметрировании, мг; p – разведение; H – навеска, г.

Реактивы – см. Феноловый метод на с.145.

Форма записи

Вариант опыта	№ колбы	Навеска, *г*	Азот, по шкале, *мг*	*p* (разведение)	N (легкогидролизуемый), *мг/100 г*

Определение щелочногидролизуемого азота в почве по Корнфилду (в модификации ЦИНАО)

Подвижный щелочногидролизуемый азот, определяемый по методу Корнфилда (в модификации), является, по существу, легкогидролизуемым азотом почвы и характеризует содержание потенциально

доступного для растений азота. Метод довольно широко используется для прогнозирования доз азотных удобрений под различные сельскохозяйственные культуры.

Сущность метода. Определение щелочногидролизуемого азота по Корнфилду основано на гидролизе органических соединений почвы раствором гидроокиси натрия NaOH концентрации 1 моль/дм^3 (1 н.). Выделившийся аммиак (с учетом обменного аммония) определяют микродиффузным методом с использованием модифицированных литых чашек Конвея (рис. 19). Аммиак при этом поглощается раствором борной кислоты и оттитровывается серной кислотой.

Ход анализа

Пробу воздушно-сухой почвы массой 2 г, взвешенную с погрешностью 0,02 г, помещают во внешнюю часть чашки Конвея таким образом, чтобы почва находилась в одном месте. Во внутреннюю часть чашки наливают 2 см^3 борной кислоты (2%-й) и добавляют к ней две капли индикатора Гроака. Далее чашку, края которой смазаны вазелином, накрывают крышкой, так, чтобы была небольшая щель со стороны противоположной размещению почвы. В это отверстие приливают из бюретки 5 см^3 раствора щелочи (1 н.) и быстро герметически крышкой закрывают чашку.

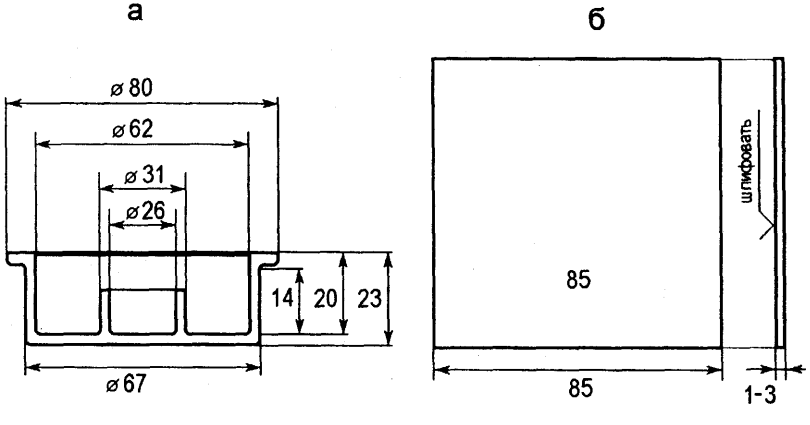


Рис. 19. Чашка Конвея:
а – разрез, б – крышка. Размеры даны в мм.

Затем в течение 1 мин осторожными круговыми движениями со слабым покачиванием чашки перемешивает почву с раствором щелочи, не допуская попадания щелочи во внутреннюю часть чашки. После этого чашку в горизонтальном положении помещают в термостат и выдерживают 24 ч при температуре 28°С.

После термостатирования чашку вынимают, снимают крышку, помещают на магнитную мешалку и титруют аммиак, поглотившийся борной кислотой (магнитик можно изготовить из небольшого кусочка металла, запаяв его в стеклянную трубочку). Титрование проводят из микробюретки раствором серной кислоты концентрации 0,02 моль/дм^3 (0,02 н.) до изменения зеленой окраски индикатора в малиновую. По окончании титрования регистрируют расход (объем) титранта по бюретке.

Обработка результатов

Содержание щелочногидролизуемого азота по Корнфилду в анализируемой почве (мг N /кг) рассчитывают по формуле

$$N = \frac{V \cdot c \cdot K \cdot 0{,}014 \cdot 1000 \cdot 1000}{H},$$

где V – объем раствора серной кислоты, израсходованного на титрование, см^3; c – концентрация раствора серной кислоты (0,02 моль/дм^3); K – коэффициент поправки; H – масса пробы почвы, г; *0,014* – молярная масса азота, г/ммоль; *1000* – коэффициент пересчета *г* в *мг*; *1000* – коэффициент пересчета на *1 кг* почвы.

При массе пробы почвы *2 г* и при использовании для приготовления титрованного раствора серной кислоты стандарт-титра с точно установленной концентрацией *0,02 моль/дм^3 (0,02 н.)*, расчет проводят; по преобразованной формуле: $X' = V \cdot 140$.

Допускаемые отклонения при доверительной вероятности P = 0,95 от среднего арифметического при повторном анализе составляют: для диапазона концентрации азота менее 100 мг/кг почвы – 15,0%, свыше 100 мг/кг – 10,0%.

Реактивы

1. Раствор серной кислоты (ГОСТ 4204, «х.ч.») концентрации 0,02 моль/дм^3 (0,02 н.). Для приготовления используют стандарт-титр серной кислоты концентрации 0,1 моль/дм^3 (0,1 н.) в соответствии с правилами, приложенными к комплекту или готовят 0,1 н. раствор из концентрированной кислоты (см. в ПРИЛОЖЕНИИ), а затем разбавляют в 5 раз.

2. Раствор борной кислоты (ГОСТ 9656) с массовой долей 2%: 40 г борной кислоты растворяют примерно в 800 см^3 теплой воды при дальнейшем нагревании до полного растворения. После охлаждения доводят объем раствора дистиллированной водой до 1000 см^3.

3. Комбинированный индикатор Гроака: смешивают равные объемы спиртового раствора метилового красного (ГОСТ 5853) с массовой долей 0,4% и спиртового раствора метиленового голубого о массовой долей 0,2%. Раствор хранят в темной склянке.

4. Раствор натрия гидроокиси концентрации 1 моль/дм^3 (1 н.): 40 г NaOH (ГОСТ 4323 «ч.д.а.») растворяют в дистиллированной воде и после охлаждения доводят объем раствора до 1000 см^3.

5. Спирт этиловый ректифицированный (ГОСТ 5962).

6. Вода дистиллированная (ГОСТ 6709).

7. Вазелин.

Аппаратура и материалы

1. Весы лабораторные 2-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 200,0 г (ГОСТ 24104) и 4-го класса точности с наименьшим пределом взвешивания 500 г (ГОСТ 24104) или аналогичные.
2. Чашки Конвея с крышками, которые имеют шлифованные поверхности. (Схема чашки и крышки представлена на рис. 19).
3. Термостат биологический с терморегулятором.
4. Колбы мерные вместимостью 100 $см^3$, 1000 $см^3$ (ГОСТ 1770).
5. Шприц-дозатор вместимостью 2 $см^3$ или пипетка вместимостью 2 $см^3$ (ГОСТ 20292).
6. Бюретка вместимостью 50 $см^3$ (ГОСТ 20292).
7. Микробюретка градуированная вместимостью 5 $см^3$ (ГОСТ 1770).
8. Капельница для индикатора.
9. Мешалка магнитная.

Определение фиксированного аммония в почве по Могилевкиной

Фиксированным называется аммоний, который не извлекается из почвы при обработке ее 1 н. раствором KCl.

Фиксация ионов аммония обусловливается вхождением их в межпакетные промежутки кристаллической решетки трехслойных почвенных глинистых минералов.

Фиксированный аммоний может быть частично использован растениями: доступна та его фракция, которая не является структурным элементом решетки.

Предварительное удаление из почвы обменного аммония и органических соединений азота достигается прокаливанием почвенного образца в муфеле. Для разрушения минеральной фракции почвы и определения аммония применяют метод Кьельдаля.

Ход анализа

Берут 8 г воздушно-сухой почвы, растертой и пропущенной через сито с диаметром отверстий в 1 мм в фарфоровый тигель, и ставят в муфель, отрегулированный на температуру 400°С. При содержании в почве гумуса до 1,5% образцы выдерживаются в муфеле 24 ч, 1,5 – 5% – 48 ч, больше 5% – 72 ч.

После озоления образец переносят в колбу Кьельдаля емкостью 100 $см^3$, добавляют 5 г K_2SO_4 и 0,05 г селена. Смывают приставшие к чашке частицы почвы и переносят в колбу Кьельдаля. Добавляют 15 $см^3$ концентрированной H_2SO_4 (d = 1,84). Проводят сжигание 5 ч. Аммиак отгоняют в аппарате Кьельдаля в 4%-й раствор борной кислоты.

Пример расчета и реактивы – см. Феноловый метод на с.145.

Определение обменного аммония и нитратов в почве из одной навески по Кудеярову

Нитратный азот и обменный аммоний можно определить в одной вытяжке колориметрически с использованием фенолят-гипохлоритной реакции. Для этой цели применяют вытяжку 0,1 н раствора K_2SO_4.

Ход анализа

10 – 20 г почвы помещают в коническую колбу и заливают раствором 0,1н. K_2SO_4 в соотношении почвы к раствору 1:10, взбалтывают на ротаторе 30 мин.

Для определения содержания обменного аммония берут 25 $см^3$ фильтрата в мерную колбу на 100 $см^3$ и проводят определение азота феноловым методом (см. на с. 144 – 145).

Нитратный азот определяется разностным методом. Для определения суммарного содержания аммиачного и нитратного азота берут 25 $см^3$ вытяжки в мерную колбу на 100 $см^3$, куда предварительно вносят 0,16 г цинковой пыли. Приливают 10 $см^3$ 5 н. H_2SO_4 и 1 – 2 капли 10%-го водного раствора $CuSO_4$ для ускорения выделения H_2. Содержимое доводят до 40 $см^3$ и ставят в термостат при 90 – 100° С на 1,5 – 2 ч (считая с момента нагрева колбы). О конце восстановления нитратов можно судить по растворению цинковой пыли. Аликвоту вытяжки с содержанием азота 0,01–0,1 мг помещают в мерную колбу на 100 $см^3$ и проводят определение азота феноловым методом, как описано выше.

Пример расчета – см. на с. 145.

Минеральный азот почвы и его формы

Основное количество почвенного азота сосредоточено в органическом веществе почвы. Азот органического вещества почвы непосредственно недоступен для растений, поэтому об обеспеченности растений почвенным азотом судят по содержанию в почве минерального азота.

Минеральные соединения азота в пахотном слое составляют небольшую часть (1–5%) от общего содержания азота в почве. Эти соединения представлены в основном нитратами и аммонием.

Основным природным резервом, поставляющим растениям минеральный азот, является органическое вещество почвы. В результате жизнедеятельности микроорганизмов, использующих органическое вещество почвы как источник энергии, происходит аммонификация азотсодержащих органических веществ. Значительная часть освободившегося при этом аммония подвергается нитрификации.

Аммоний присутствует в почвах в форме водорастворимых солей, обменного аммония, фиксированного (необменного) аммония. В пахотных горизонтах преобладает обменный аммоний.

Нитраты находятся в почве в виде водорастворимых солей. Они отличаются высокой подвижностью, в связи с чем содержание их в почве подвержено большим колебаниям. Из пахотных горизонтов почв, особенно песчаных, нитраты могут вымываться атмосферными осадками и поливными водами в более глубокие слои. В образцах почвы с одного и того же варианта опыта, но взятых в различные сроки, содержание нитратов может значительно варьировать.

Нитраты и обменный аммоний являются основными источниками азота, обеспечивающими питание растений.

Содержание минеральных форм азота в почве весьма лабильно и зависит от целого ряда факторов: микробиологических процессов – аммонификации, нитрификации, денитрификации, азотфиксации и др., гранулометрического состава; физико-химических свойств почвы; гидротермических условий периода вегетации растений, вида выращиваемой культуры. Поэтому определение минеральных форм азота в почвенных образцах устанавливает их содержание только для срока взятия образца, но не даёт представления об обеспеченности растения почвенным азотом в течение вегетации. В связи с этим, минеральный азот в почве, как правило, определяют несколько раз за период вегетации растений, т.е. в динамике. Это позволяет рассчитать или корректировать дозы и сроки внесения азотных удобрений, проведение подкормок растений азотом.

Содержание минерального азота в почве до посева и по фазам развития растений определённым образом коррелирует с содержанием азота в вегетативных органах растений и величиной урожая сельскохозяйственных культур, что является основой для почвенной диагностики питания растений азотом.

Определение содержания обменного аммония

Основная часть аммонийного азота в почве находится в поглощённом или обменном состоянии и легко вытесняется из ППК другими катионами, например натрием или калием; поэтому определение содержания аммонийного азота в почве проводят в солевой вытяжке:

$$[ППК]\begin{matrix}NH_4\\NH_4\end{matrix} + 2\,NaCl \rightarrow [ППК]\begin{matrix}Na\\Na\end{matrix} + 2\,NH_4Cl$$

Образовавшийся хлорид аммония при взаимодействии с реактивом Несслера в щёлочной среде образует комплексное соединение оранжевого цвета – йодистый меркураммоний. Интенсивность полученной окраски пропорциональна содержанию аммония в растворе:

$$NH_4Cl + 2K_2HgJ_4 + 4KOH = \underset{\text{меркураммоний}}{\underline{NH_2HgOJ}} + 7KJ + 3H_2O + KCl$$

Окрашенный раствор колориметрируют на фотоколориметре.

Ход анализа

На технических весах берут навеску свежей почвы массой 5 г и переносят в колбу ёмкостью 250–300 см^3. Приливают из бюретки 150 см^3 0,05 н. раствора *NaCl*. Взбалтывают на ротаторе 1 час (или 10 – 15 мин и оставляют на ночь).

Отфильтровывают раствор через воронку с сухим складчатым фильтром, отбросив первую порцию фильтрата. Берут пипеткой 5–40 см^3 (в зависимости от ожидаемого количества азота) прозрачного раствора в мерную колбу на 50 см^3. Если количество взятого испытуемого раствора меньше 20 см^3, добавляют дистиллированной воды до объёма 20 см^3.

Приливают пипеткой 2 см^3 50%-го раствора сегнетовой соли для предупреждения осаждения кальция и магния из раствора. Хорошо взбалтывают и приливают пипеткой 2 см^3 реактива Несслера. Доводят объем до метки дистиллированной водой и перемешивают. Окрашенный раствор колориметрируют через 5–7 мин.

Раствор при окрашивании может быстро помутнеть как от присутствия в фильтрате значительных количеств кальция и магния, так и от высокой концентрации аммония. В этом случае добавляют 1 – 2 см^3 раствора сегнетовой соли либо уменьшают количество испытуемого раствора. Чтобы убедиться в получении устойчивой окраски, через 10 – 15 мин. после первого колориметрирования проводят повторное.

Колориметрирование проводят с синим светофильтром, длина волны 400 – 440 нм.

Содержание аммония в мг находят по калибровочному графику.

$$NH_4^+ \ [мг/100г\ почвы] = \frac{a \cdot P \cdot 100 \cdot K}{H},$$

где: a – количество аммония по графику, мг; P – разведение, K – коэффициент влажности, H – навеска почвы в г; 100 – пересчёт на 100 г почвы.

Пример расчета. Для окрашивания было взято 5 см^3 фильтрата (аликвота), следовательно P – разведение 150 : 5 = 30. Показание фотоэлектроколориметра – 0,25, по калибровочному графику находим количество аммония, соответствующее показанию ФЭКа – 0,01 мг. Коэффициент влажности К = 1.2. Содержание NH_4^+ = 0,01 30 100 1,2 : 5 = 7.2 мг на 100 г почвы.

Форма записи.

№ образца	Навеска почвы, г	К	Разведение	Показания ФЭК	мг NH_4^+ по графику	мг NH_4^+ на 100 г почвы
1	5	1,2	30	0,25	0,01	7,2

После этого можно провести расчет количества аммонийного азота в 100 г почвы по следующей формуле:

N–NH_4 = мгNH_4 14.008 : 18.008 = 7,2 14,008:18.008 = 5.601 мг/100 г.

где 14.008 – атомная масса N и 18.008 – масса NH_4^+.

Построение калибровочного графика

Готовят образцовые растворы.

Стандартный раствор: 0,7405 г «х.ч.» NH_4Cl растворяют в 1 дм^3 дистиллированной воды, не содержащей аммиака. В 1 см^3 раствора содержится 0,25 мг NH_4^+.

Рабочий раствор: 20 см^3 стандартного раствора помещают в мерную колбу на 1 дм^3 и доводят до метки. В 1 см^3 раствора содержится 0,005 мг NH_4^+.

Из рабочего раствора готовят шкалу образцовых растворов в соответствии с таблицей, в мерных колбах на 50 или 100 см^3.

Окрашивание образцовых растворов проводится так же, как и испытуемых.

Таблица построения калибровочной шкалы на NH_4^+

№ колбы	1	2	3	4	5	6	7
Количество образцового раствора, см^3	1	2	5	10	15	20	25
Содержание NH_4^+ в колбе, мг	0,005	0,01	0,025	0,05	0,075	0,10	0,125

Реактивы

1. Реактив Несслера – используют готовый реактив (заводского приготовления) или готовят в лабораторных условиях как описано в ПРИЛОЖЕНИИ.
2. 0,05 н. раствор *NaCl*: 2,92 г «х.ч.» соли растворить в дистиллированной воде в колбе на 1 дм^3, довести до метки.
3. 50%-й раствор сегнетовой соли. 50 г калия-натрия виннокислого растворить в 50 см^3 дистиллированной воды.

Определение содержания аммонийного азота в модификации ЦИНАО (ГОСТ 26489)

Метод основан на получении окрашенного индофенольного соединения, образующегося в щелочной среде при взаимодействии аммиака с гипохлоритом и салицилатом натрия. Метод непригоден для карбонатных и засоленных почв. Принят как стандарт для кислых почв.

Навеска почвы может варьировать от 10 до 40 г в зависимости от содержания аммиака. При этом необходимо соблюдать соотношение почвы и экстрагирующего раствора 1:2,5.

Ход анализа

На технических весах берут навеску почвы 30 г. Приливают 75 см^3 1 н. раствора KCl, взбалтывают 1 мин, отфильтровывают.

Берут 2 см^3 фильтрата, прибавляют 40 см^3 окрашивающего раствора и 2 см^3 раствора гипохлорита натрия (0,125%). Окрашенный раствор фотометрируют не ранее чем через 1 ч и не позже чем через 2,5 ч после прибавления гипохлорита натрия.

Содержание аммонийного азота (в мг/100 г почвы) рассчитывают по формуле

$$NH_4 = \frac{a \cdot p \cdot 100}{H},$$

где a – количество NH_4^+ по графику, мг; p – разведение; H – навеска почвы, г.

Реактивы

1. 1 н. раствор KCl. Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

2. Раствор окрашивающий на присутствие аммиака (запасной). Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

3. Рабочий окрашивающий раствор: запасной окрашивающий раствор разбавляют дистиллированной водой в соотношении 1:9, растворяют в нем трилон Б из расчета 2 г на 1 $дм^3$ раствора. Готовят в день анализа.

4. Раствор гипохлорита натрия (запасной). Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

5. Рабочий раствор гипохлорита натрия: запасной раствор гипохлорита натрия разводят дистиллированной водой до 0,125%. Раствор готовят и используют в день проведения анализа.

6. Раствор азота аммония массовой концентрации 0,25 мг/$см^3$. Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

7. Серия растворов сравнения. В мерные колбы вместимостью 250 $см^3$ помещают указанные ниже в таблице объемы раствора с массовой концентрацией азота аммония 0,25 мг/$см^3$. Объемы растворов доводят до меток раствором хлористого калия концентрации 1 моль/$дм^3$.

Характеристика раствора	Номера растворов сравнения							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Объем раствора, с концентрацией $N\text{-}NH_4$ 0,25 мг/$см^3$	0	2	4	8	12	16	20	24
Концентрация азота аммония: в растворе сравнения, ммоль/$см^3$	0	2	4	8	12	16	20	24
в пересчете на 100 г почвы, ммоль	0	5	10	20	30	40	50	60

Растворы сравнения используют для градуировки фотоэлектроколориметра в день проведения анализа. Окрашивание растворов сравнения проводят аналогично окрашиванию анализируемых вытяжек и одновременно с ними.

Определение содержания нитратов с гидразином в модификации ЦИНАО (ГОСТ 26488)

Метод основан на восстановлении нитратов гидразином в присутствии меди в качестве катализатора с последующим фотоколориметрическим определением в виде окрашенного диазосоединения.

Ход анализа

Навеску почвы 30 г помещают в колбу емкостью 150 – 200 $см^3$. Приливают цилиндром 75 $см^3$ 0,1 н. раствора KCl. Взбалтывают на ротаторе 1 ч, отфильтровывают.

К 5 $см^3$ фильтрата приливают 10 $см^3$ щелочного раствора натрия пирофосфорнокислого и 10 $см^3$ рабочего восстанавливающего раствора, перемешивают. Через 10 мин приливают 25 $см^3$ рабочего окрашивающего раствора, перемешивают. Фотометрируют не ранее чем через 15 мин и не позднее чем через 1,5 ч после прибавления рабочего окрашивающего раствора. Фотометрирование проводят при длине волны 545 нм или используют светофильтр с максимумом пропускания 510 – 560 нм.

Реактивы

1. 1 н. раствор KCl. Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

2. Раствор катализатора: 2,5 г $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ растворяют в дистиллированной воде и доводят до 1 $дм^3$.

3. Запасной восстанавливающий раствор: 27.5 г сернокислого гидразина растворяют в дистиллированной воде и доводят до 1 $дм^3$. Раствор хранят в склянке с притертой пробкой не более 3 мес.

4. Рабочий восстанавливающий раствор: 6 $см^3$ раствора катализатора и 200 $см^3$ запасного восстанавливающего раствора вливают в мерную колбу на 1 $дм^3$ и доводят объем дистиллированной водой до метки. Раствор готовят в день проведения анализа.

5. Запасной окрашивающий раствор: в мерную колбу на 1 $дм^3$ наливают около 500 $см^3$ дистиллированной воды, приливают 100 $см^3$ фосфорной кислоты, добавляют 5 г сульфаниламида и 1 г нафтиламина. После растворения реактивов доводят объем до метки.

6. Рабочий окрашивающий раствор: запасной окрашивающий раствор разбавляют дистиллированной водой в соотношении 1:4 и растворяют в нем трилон Б из расчета 0.2 г на 1 $дм^3$ раствора.

7. Щелочной раствор пирофосфорнокислого натрия: 5 г пирофосфорнокислого натрия и 8 г гидроокиси натрия растворяют в дистиллированной воде и объем доводят до 1 $дм^3$. Хранят в склянке с притертой пробкой не более 3 мес.

8. Раствор азота нитратов массовой концентрации 0.125 $мг/см^3$. Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

9. Растворы сравнения: в мерные колбы вместимостью 250 $см^3$ помещают указанные далее в таблице объемы раствора с массовой концентрацией азота нитратов 0.125 $мг/см^3$ и доводят объемы до меток раствором хлористого калия концентраций 1 $моль/дм^3$.

Характеристика раствора	Номера растворов сравнения							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Объем раствора, с массовой концентрацией $N\text{-}NO_3$ 0.125 $мг/см^3$	0	2	4	8	12	16	20	24
Концентрация азота нитратов: в растворе сравнения, $мг/дм^3$	0	1	2	4	6	8	10	12
в пересчете на массовую долю в почве, $млн^{-1}$	0	2.5	5.0	10	15	20	25	30

Растворы сравнения используют для градуировки фотоэлектроколориметра в день проведения анализа. Окрашивание растворов сравнения проводят аналогично окрашиванию анализируемых вытяжек и одновременно с ними.

Определение содержания нитратов в почве по Грандваль-Ляжу

Определение нитратов проводится в день взятия пробы и при естественной влажности почвы.

Метод основан на взаимодействии нитратов с дисульфофеноловой кислотой с образованием тринитрофенола (пикриновая кислота), который в щелочной среде даёт жёлтую окраску за счёт образования тринитрофенолята калия (или натрия в зависимости от используемой щёлочи) в количестве, эквивалентном содержанию нитратов:

$$3HNO_3 + C_6H_3(HSO_3)_2OH = C_6H_2(NO_2)_3OH + 2H_2SO_4 + H_2O$$

$$C_6H_2(NO_2)_3OH + KOH = \underset{\text{желтое окрашивание}}{C_6H_2(NO_2)_3OK} + H_2O.$$

Интенсивность окраски определяют на фотоколориметре.

Ход анализа

На технических весах берут 20 г свежей почвы и помещают в колбу объёмом 150–200 см^3. Приливают цилиндром 100 см^3 дистиллированной воды (или 0,02 н. раствора K_2SO_4) и взбалтывают на ротаторе в течение 3 мин по песочным часам. Фильтруют в сухую посуду через воронку с двойным складчатым бумажным фильтром, стараясь перенести максимальное количество почвы на фильтр. Не следует наливать раствор в воронку более 1/2 её объёма. Если фильтрат мутный, в колбу с почвой прибавляют 3 – 5 г активированного угля, либо фильтруют до конца и добавляют в фильтрат 0,4 см^3 7%-го раствора щелочи и 0,6 см^3 13%-го раствора $Al_2(SO_4)_3$ на 100 см^3 вытяжки. Выпавший осадок отфильтровывают через чистый фильтр.

Берут пипеткой 25-50 см^3 прозрачного фильтрата в фарфоровую чашку объёмом 50–100 см^3 и выпаривают содержимое на водяной бане до 1 капли. При пересушивании сухого остатка могут быть потери нитратов. Чашку снимают с водяной бани и осадок досушивают на воздухе.

В фарфоровую чашку после охлаждения приливают пипеткой 1 см^3 дисульфофеноловой кислоты и тщательно растирают сухой остаток небольшой стеклянной палочкой. Для удобства работы чашку ставят на специальную подставку, приливают в нее 10–15 см^3 дистиллированной воды, перемешивают и опускают в раствор кусочек лакмусовой бумаги ≈ 1 см^2. Небольшими порциями из бюретки приливают 20%-й раствор щёлочи до окрашивания лакмусовой бумаги в синий цвет. При этом образуется комплексное соединение устойчивой жёлтой окраски. Если раствор помутнеет, добавляют 2–3 капли щёлочи, постоянно перемешивая стеклянной палочкой.

Переносят количественно содержимое чашки в мерную колбу на 50 или 100 см^3 через небольшую воронку без фильтра. Доводят раствор до метки, закрывают пробкой и взбалтывают. Раствор колориметрируют с синим светофильтром. Длина волны 400 – 440 нм.

Расчёт

$$\text{Содержание } NO_3^-,\ [мг/100г\ почвы] = \frac{a \cdot P \cdot 100 \cdot K}{H},$$

где: a – содержание нитратов по графику, мг; P – разведение (100/X, где X – количество ($см^3$) исходного раствора, взятого для упаривания); K – коэффициент влажности почвы (учитывается только при анализе свежей почвы); H – навеска свежей почвы, г; *100* – пересчёт на 100 г почвы;
После этого рассчитывают количество азота нитратов на 100 г почвы:

$$N\text{-}NO_3,\ [мг/100г\ почвы] = \frac{мг\ NO_3^- \cdot 14{,}008}{62{,}008},$$

где: *14,008* – масса азота; *62,008* – масса иона NO_3^-.

Пример расчета. Для выпаривания было взято 50 $см^3$ фильтрата, следовательно P – разведение 100 : 50 = 2. Показание ФЭКа – 0,25. Количество мг NO_3^-, найденное по калибровочному графику – 0,01. Коэффициент влажности К = 1,2.
Содержание NO_3^- = 0,01 · 2 · 100 · 1,2 : 20 = 0,12 мг на 100 г почвы.
Пересчет на азот нитратов: N – NO_3^- = 0,12 · 14,008 : 62,008 = 0,03 мг/100 г почвы.

Форма записи

№ образца	Навеска почвы, г	Разведение	Показания ФЭК	мг NO_3^- по графику	NO_3^-	$N\text{–}NO_3^-$
					мг/100 г почвы	
1	20	2	0,25	0,01	0,12	0,03

Построение калибровочного графика

Стандартный раствор: 0,1631 г перекристаллизованного KNO_3 растворяют в дистиллированной воде в мерной колбе на 1 $дм^3$.
Образцовый раствор: 10 $см^3$ стандартного раствора переносят пипеткой в мерную колбу на 100 $см^3$ и доводят дистиллированной водой до метки. В 1 $см^3$ полученного раствора содержится 0,01 мг NO_3^- или 0,00226 мг N.

• В мерных колбах на 50 или 100 $см^3$ готовят стандартную шкалу в соответствии с таблицей, предварительно выпарив соответствующее количество образцового раствора. При выпаривании небольших количеств (1-5 $см^3$) образцового раствора в чашку приливают 5–10 $см^3$ дистиллированной воды во избежание пересушивания сухого остатка. Окрашивание растворов калибровочной шкалы проводится в соответствии с описанной выше методикой.

№ колбы	1	2	3	4	5	6	7
Количество образцового р-ра, $см^3$	1	2	5	10	15	20	25
Содержание NO_3^- в колбе, мг	0,01	0,02	0.05	0,10	0,15	0,20	0,25

Реактивы и материалы

1. Дисульфофеноловая кислота. Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

2. 20%-й раствор *NaOH* или *KOH*. 20 г *NaOH* или *KOH* растворить в 80 $см^3$ дистиллированной воды.

3. Лакмусовая бумага.

Определение нитратов в почве с помощью ионоселективного электрода

Метод основан на определении концентрации нитратов в почве с помощью ионоселективного электрода в солевой суспензии 1%-го раствора алюмокалиевых квасцов при соотношении проба : раствор 1:2,5.

Метод используют для определения нитратов во всех почвах, кроме засоленных.

Ход анализа

Пробу сухой почвы (навеска 20 г), просеянной через сито с диаметром отверстий 2 мм, помещают в конические колбы объемом 100 $см^3$ и приливают 50 $см^3$ 1%-го раствора алюмокалиевых квасцов и перемешивают в течение 3 мин. В полученной суспензии нитратным ионоселективным электродом измеряют активность нитрат-иона, как описано выше в единицах pNO_3^- или в мВ.

Измерение активности в мВ

В этом случае нитратный электрод (для любых марок милливольтметров) подключают к гнезду «ИЗМ», а хлорсеребряный – к гнезду «ВСП». Тумблер «Род работ» ставят в положение +мВ и производят измерение ЭДС электродной пары. Активность ионов NO_3^- находят по калибровочному графику, построенному на миллиметровой бумаге. По оси абсцисс откладывают величины pNO_3^-, соответствующие стандартным растворам KNO_3 в молях, а по оси ординат – ЭДС, мВ. Для этого перед измерением активности исследуемых образцов проводят измерение ЭДС электродной пары в стандартных растворах.

Полученные значения pNO_3 переводят в миллиграммы $N\text{-}NO_3$ почвы по таблице 11 или рассчитывают по формуле

$$N\text{-}NO_3,\ [мг/кг] = \frac{10 \cdot 14 \cdot V \cdot 10}{m},$$

где, *14* – атомная масса азота, г; *V* – объем экстрагирующего раствора, $см^3$; *m* – масса пробы почвы, г; pNO_3 – отрицательный логарифм концентрации нитрат-ионов.

Стандартные растворы.

Исходный 0,1 М раствор KNO_3: взвешивают 10,11 г соли KNO_3, предварительно перекристаллизованной и высушенной при 105°С, растворяют в 1%-м растворе алюмокалиевых квасцов в колбе объемом 1000 $см^3$ и доводят до метки тем же раствором.

Далее из него путем разбавления 1%-м раствором алюмокалиевых квасцов готовят стандартные растворы с концентрацией 0,01 М, 0.001 М и 0.0001 М KNO_3. Растворы хранят в холодильнике в течение месяца.

11. Расчет содержания нитратов (мг/кг почвы) по величине pNO_3^- при соотношении почва : раствор 1 : 2,5

pNO_3	$N\text{-}NO_3$, мг/кг	pNO_3	$N\text{-}NO_3$, мг/кг	pNO_3	$N\text{-}NO_3$, мг/кг	pNO_3	$N\text{-}NO_3$, мг/кг
2,55	97,7	3,00	34,7	3,45	12,3	3,90	4,4
2,60	87,1	3,05	30,9	3,50	11,0	3,95	3,9
2,65	77,6	3,10	27,5	3,55	9,8	4,00	3,5
2,70	69,2	3,15	24,6	3,60	8,7	4,05	3,1
2,75	61,7	3,20	21,9	3,65	7,8	4,10	2,8
2,80	55,0	3,25	19,5	3,70	6,9	4,15	2,5
2,85	49,0	3,30	17,4	3,75	6,2	4,20	2,2
2,90	43,6	3,35	15,5	3,80	5,5	4,25	1,9
2,95	38,9	3,40	13,8	3,85	4,9	4,30	1,7

Аппаратура, материалы, реактивы

1. Иономер или pH-метр-милливольтметр.
2. Весы лабораторные с метрологическими характеристиками (ГОСТ 24104).
3. Колбы конические объемом 100 $см^3$.
4. Колбы мерные объемом 100 $см^3$ и 1000 $см^3$ по ГОСТу 1770.
5. Алюмокалиевые квасцы [$Al_2(SO_4)_3 \cdot K_2SO_4 \cdot 24H_2O$], раствор в дистиллированной воде с массовой долей 1%.
6. Нитрат калия «х.ч.»

Определение содержания нитритов с альфа-нафтиламином и сульфаниловой кислотой

Метод основан на извлечении нитритов из проб дистиллированной водой и взаимодействии их с альфанафтиламином и сульфаниловой кислотой в кислой среде с образованием азосоединения розово-красного цвета. Реакция специфична для нитритов.

Чувствительность определения 0,01 мг $NaNO_2$ в 1 $дм^3$ раствора.

Ход анализа

10 г тщательно растертой почвы заливают дистиллированной водой (50 $см^3$). Извлечение нитритов проводят в течение часа, часто встряхивая содержимое колбы. Затем фильтруют и берут 10 $см^3$ для анализа.

В пробирку с 10 $см^3$ фильтрата добавляют 0,5 $см^3$ реактива Грисса и через 15 мин определяют оптическую плотность анализируемого раствора на фотоэлектроколориметре (при зелёном светофильтре № 5, длине волны 536 мкм) в кюветах 10 мм, раствор для сравнения – дистиллированная вода, и определяют содержание NO_2^--иона по калибровочной кривой.

Построение калибровочной кривой

Для приготовления шкалы стандартов в 10 химических пробирок наливают рабочий раствор в количествах, указанных далее в таблице. Затем в пробирки наливают воду до объема 10 $см^3$, в каждую пробирку наливают по 0,5 $см^3$ реактива Грисса. Через 15 мин после развития цвета определяют оптическую плотность раствора. Далее на оси абсцисс откладывают количество NO_2^- в мг, а на оси ординат – найденные значения оптической плотности растворов и проводят кривую через точки пересечения.

№ пробирок	Количество раствора в $см^3$	Содержание NO_2^- в мг
1	0,2	0,0010
2	0,4	0,0020
3	0,6	0,0030
4	0,8	0,0045
5	1,0	0,0050
6	1,2	0,0060
7	1,4	0,0070
8	1,6	0,0080
9	1,8	0,0095
10	2,0	0,0100

Определение оптической плотности окрашенного раствора в опытной пробирке проводят только при наличии прозрачного и бесцветного фильтрата. В противном случае можно проводить только визуальное определение, сравнивая опытную пробирку со стандартной шкалой.

Расчёт проводят по формуле $$X = \frac{Y \cdot B \cdot 1000}{H},$$

где X – количество нитрит ионов (в мг на кг), Y – количество нитрит ионов по графику, мкг; B – разведение, H – навеска, г.

Реактивы

1. Реактив Грисса. Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.
2. *Стандартный раствор* нитрита натрия: 0,15 г $NaNO_2$ (натрия азотистокислого, «х.ч.», ГОСТ 4197) высушенного при температуре 70 – 80°С растворяют в 1 $дм^3$ дистиллированной воды, свободной от нитритов. Раствор хранят в холодном месте, он устойчив в течение месяца, 1 $см^3$ этого раствора содержит 0,100 мг – NO_2^--ионов.
3. *Рабочий раствор*: 25 $см^3$ полученного стандартного раствора переносят в мерную колбу емкостью 500 $см^3$ и доводят объем до метки дистиллированной водой.

Раствор должен быть свежеприготовленным. 1 $см^3$ этого раствора содержит 0,005 мг NO_2^--ионов. Этот раствор используют для построения шкалы стандартов или калибровочной кривой.

Приборы и посуда

1. Химические пробирки.
2. Пипетки на 1 и 10 $см^3$.
3. Конические колбы.
4. Химические стаканы.
5. Мерные колбы на 1000 и 500 $см^3$.
6. Цилиндры на 10, 50 и 100 $см^3$.
7. Фотоэлектроколориметр.

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ФОСФОРА В ПОЧВЕ

Содержание фосфора в почвах колеблется от 0,01% – в бедных песчаных до 0,2% – в мощных высокогумусных почвах.

Современные представления о фосфатном режиме почв основаны на том, что растения поглощают фосфор в основном в форме ортофосфатов, содержащихся непосредственно в почвенном растворе. Переход фосфатов в почвенный раствор из твердой фазы почвы – процесс динамичный, зависящий от целого ряда внешних и внутренних факторов: запаса всех форм природных фосфатов в соединениях разной степени прочности; остаточного количества фосфора от ранее внесенных удобрений; емкости поглощения почв в отношении фосфат-ионов; условий, влияющих на процесс трансформации фосфатов (температура, влажность, степень кислотности, катионный состав ППК и т.д.); деятельности корневой системы растений и других факторов.

Такое большое количество факторов влияния явилось причиной появления большого количества методов определения и принципов интерпретации полученных результатов для характеристики фосфатного режима почв.

Фосфатный режим почв означает их способность снабжать растения фосфором. Он характеризуется рядом показателей:

1 – фактором емкости, означающим количество фосфора, доступного растениям;

2 – фактором интенсивности, характеризующим степень подвижности имеющегося в почве запаса растворимых фосфатов (или возможность использования растениями подвижных фосфатов);

3 – фактором скорости, характеризующим скорость пополнения фосфора в зоне корневых систем (выдвинут в основном английскими исследователями [Кук и др.]).

Для характеристики фосфатного режима почв определяют следующие показатели: содержание валового фосфора, общее содержание минеральных и органических фосфатов, минеральные формы фосфатов, подвижные соединения фосфатов, степень подвижности фосфатов, потенциальную буферная способность почв в отношении фосфатов.

Определение валового содержания фосфора в почве

Метод К.Е. Гинзбург

Метод основан на сжигании почвы в смеси концентрированной серной и 50%-й хлорной кислот (10:1) и колориметрическом определении фосфора после осаждения железа по Уоррену и Пью (см. на с. 162).

Ход анализа

0,5 г воздушно-сухой почвы, просеянной через сито с диаметром отверстий 0,25 мм, перенести в колбу Кьельдаля и смочить водой. Прилить 10 $см^3$ концентрированной серной кислоты и 1 $см^3$ 50%-й хлорной кислоты и оставить на 1 ч (или на ночь) для озоления на холоде.

Поставить колбы на печь Кьельдаля и провести озоление до полного обесцвечивания раствора. Охладить колбу и перенести содержимое колбы Кьельдаля в мерную колбу на 100 (или 200) $см^3$ промывая ее небольшими порциями дистиллированной воды. После охлаждения мерной колбы довести содержимое до метки и тщательно перемешать.

В мерную колбу на 100 $см^3$ взять аликвоту анализируемого раствора (10 – 20 $см^3$) и провести осаждение железа по методу Уорена и Пью (см. ниже). В аликвоте фильтрата после осаждения железа провести определение фосфора колориметрически (см. далее – метод Кирсанова).

Реактивы.

1. Концентрированная H_2SO_4 (d = 1,84).
2. Концентрированная $HClO_4$.

Осаждение железа методом Уорена и Пью

Ход анализа.

Пипеткой взять 20 – 25 $см^3$ фильтрата в плоскодонную колбу на 100 $см^3$. Прибавить при помешивании 6 $см^3$ 10%-ного раствора $K_4Fe(CN)_6$ (железисто-синеродистого калия) для отделения ионов. Пипеткой прибавить 5 $см^3$ 10%-го раствора $MnSO_4$ для связывания $K_4Fe(CN)_6$. Раствор в колбах оставить на 10 – 15 мин.

Смесь титровать 10%-ным раствором аммиака до момента резкого перехода синей окраски в красновато-лиловую (pH 6,8-6,9). При этом комплексное соединение железа и марганца удерживается в осадке.

Добавить пипеткой 3,5 $см^3$ 2 н. раствора H_2SO_4.

Примечание. Так как в этой реакции осаждается и фосфор, то для его растворения прибавить 2 н. раствор NaOH и отфильтровать.

Далее в фильтрате определяют содержание фосфора.

Реактивы

1. 0,5 н. H_2SO_4: 14 $см^3$ H_2SO_4 (d = 1,84) поместить в мерную колбу на 1 $дм^3$ прилить 800 $см^3$ дистиллированной воды и после охлаждения довести до метки дистиллированной водой. Перемешать.

2. 2 н. NaOH: 80 г едкого натра растворить в 500 $см^3$ дистиллированной воды, перенести в мерную колбу на 1 $дм^3$ и довести до метки. Перемешать.

3. 2 н. H_2SO_4: 56 $см^3$ концентрированной H_2SO_4 поместить в мерную колбу на 1 $дм^3$, прилить 800 $см^3$ дистиллированной воды, перемешать и после охлаждения довести до метки дистиллированной водой. Перемешать.

4. Раствор железисто-синеродистого калия $K_4Fe(CN)_6$ 10%-й.

Определение общего содержания минеральных и органических фосфатов почвы.

Метод прокаливания Сэндерса и Вильямса

Ход анализа

1 г почвы, просеянной через сито с d = 0,25 мм, помещают в фарфоровый тигель и прокаливают в течение 2 – 3 час при температуре 500 – 550°С в муфельной печи.

Прокаленную навеску почвы количественно переносят в колбу при помощи 50 $см^3$ 0,2 н. раствора H_2SO_4;

Взбалтывают на ротаторе в течение 2 ч, затем оставляют для настаивания на 16 – 18 часов. Фильтруют в сухую посуду – получают раствор А (для определения содержания общего фосфора).

Параллельно берут навеску 1 г почвы и помещают ее в колбу, приливают 50 $см^3$ 0,2 н. раствора H_2SO_4, взбалтывают на ротаторе в течение 2 ч, затем оставляют для настаивания на 16 – 18 ч. Фильтруют в сухую посуду и получают раствор В (для определения содержания минерального фосфора).

В аликвотах растворов А и В проводят определение фосфора колориметрически (расчет см. в методе Кирсанова).

Содержание органического фосфора вычисляют по разности между содержанием общего фосфора (раствор А) и минерального (раствор В).

Реактивы

1. 0,2 н. H_2SO_4.

Определение подвижных форм фосфора в почве

Эффективное плодородие почв в отношении фосфатов определяется запасом подвижных форм фосфора. К этой группе относятся различные формы почвенных фосфатов, находящихся в динамическом равновесии «твёрдая фаза почвы ⇔ раствор». Степень доступности растениям подвижных фосфатов зависит от химических, физико-химических, физических свойств данного типа почвы, сезонной динамики её водного, воздушного и теплового режимов, биологической активности почвы, биологических особенностей возделываемых растений, применяемых удобрений и других факторов.

Доступными для усвоения растениями и микроорганизмами являются:

1. Соли ортофосфорной кислоты: однозамещённые соли калия, натрия, аммония, кальция и магния, которые растворимы в воде.
2. Двузамещённые $CaHPO_4$ и $MgHPO_4$ – растворимые в слабых кислотах.
3. Труднорастворимые трёхзамещённые $Ca_3(PO_4)_2$, $AlPO_4$, $FePO_4$, которые могут давать растворимые соединения в результате гидролиза в почве.

Содержание водорастворимых фосфатов в почве незначительно и составляет 2 – 3 мг на 1 кг почвы, так как они быстро потребляются растениями и микроорганизмами. В связи с этим доступной считается часть почвенных фосфатов, которая переходит в слабокислую вытяжку. Предполагают, что слабые кислоты по силе воздействия на ППК соответствуют воздействию корневой системы растений.

Для разработки рациональной системы удобрения в хозяйствах необходимо знать количество в почве как общего (валового), так и подвижного фосфора. Выбор формы фосфорного удобрения для каждой почвы, сроки и способы, дозы внесения их зависят от общего уровня плодородия почвы и количества подвижных фосфатов.

Для определения подвижных форм фосфора в почвах существуют различные методы, которые различаются, прежде всего, выбором реактива для получения соответствующей вытяжки.

Фосфаты, доступные растениям, представлены в основном фосфатами, осаждёнными или адсорбированными на поверхности твёрдой фазы почвы и фосфатами почвенного раствора.

Для определения подвижных фосфатов на кислых и слабокислых почвах, как правило, применяют кислотные вытяжки и различные буферные смеси с исходным pH в пределах 1 – 5, а на карбонатных почвах – буферные смеси с pH 3,2 – 5,0 и щелочные вытяжки с pH 8,5 – 11,0. Конечное определение различных форм фосфатов в растворе сводится к определению содержания ортофосфорной кислоты.

Ортофосфат PO_4^{3-} в слабокислой среде при определённой концентрации ионов водорода образует с молибденом фосфорно-молибденовую гетерополикислоту состава $H_7[P(Mo_2O_7)_6]_n \cdot nH_2O$, окрашенную в жёлтый цвет. При добавлении восстановителя к раствору этого комплекса, входящий в него шестивалентный молибден частично восстанавливается с образованием так называемой фосфорно-молибденовой сини, окрашивающей раствор в голубой или синий цвет. По интенсивности окраски определяют содержание фосфора в исследуемом растворе. При этом следует подбирать такие условия анализа, при которых восстанавливался бы молибден, связанный с фосфором, и не восстанавливалась остальная часть *Mo*, которая находится в растворе в избытке. Это достигается определённым соотношением реактивов: минеральной кислоты (H_2SO_4, HCl, $HClO_4$), молибденовокислого аммония и восстановителя ($SnCl_2$, аскорбиновой кислоты, сернокислого гидразина, гидрохинона и т.д.).

Следует помнить, что гетерополикислота образуется в слабокислой среде, а в сильнокислых растворах часть гетерополикислоты разрушается.

Определение подвижных форм фосфора по Кирсанову

Метод считается стандартным для кислых почв Нечернозёмной зоны, основан на извлечении подвижных фосфатов из почвы 0,2 н. раствором *HCl* при соотношении «почва : раствор» = 1 : 5.

Ход анализа

На технических весах берут 10 г воздушно-сухой почвы. Помещают навеску почвы в колбу объёмом 100-200 $см^3$. Приливают из бюретки 50 $см^3$ 0,2 н. раствора *HCl*. Взбалтывают на ротаторе 1 мин, дают отстояться суспензии 10 – 15 мин и фильтруют через воронку со складчатым бумажным беззольным фильтром. Следует помнить, что при определении фосфора в любых объектах нужно пользоваться только беззольными фильтрами!

Для определения берут 3 – 5 $см^3$ фильтрата, в зависимости от ожидаемого количества фосфора, в мерную колбу объёмом 50 $см^3$ и приливают 20 – 25 $см^3$ дистиллированной воды. Нейтрализуют раствор 5%-м раствором NH_4OH под тягой по фенолфталеину (2 – 3 капли) до появления слабо-розовой окраски, перемешивают.

Прибавляют по каплям 1%-й раствор серной кислоты до обесцвечивания раствора, перемешивают. Приливают в раствор 1 $см^3$ сульфатмолибденовой жидкости, хорошо взбалтывают. Прибавляют 3 капли раствора хлористого олова, взболтать и окрашенный раствор довести до метки дистиллированной водой.

Через 10 – 15 мин колориметрируют на ФЭКе с красным светофильтром при длине волны 650 нм.

Расчёт

$$Содержание\ P_2O_5,\ [мг/100\ г\ почвы] = \frac{a \cdot P \cdot 100 \cdot K}{H},$$

где: a – мг P_2O_5 по графику; P – разведение при колориметрировании; K – коэффициент влажности почвы; H – навеска почвы, г.

Пример расчета. Для определения (окрашивания) взяли 5 $см^3$ фильтрата, следовательно, разведение $P = 50 : 5 = 10$. Показание ФЭК – 0,25. Количество мг $P_2O_5^-$, найденное по калибровочному графику 0,02. Коэффициент влажности К=1. *Содержание* $P_2O_5^-$ = 0,02 · 10 · 100 · 1 : 10 = 2,0 мг на 100 г почвы.

Форма записи

№ образца	Навеска почвы, г	K	Разведение	Показания ФЭК	мг $P_2O_5^-$ по графику	мг $P_2O_5^-$ на 100 г почвы
1	10	1,0	10	0,25	0,02	2,0

12. Обеспеченность почв подвижными фосфатами по содержанию P_2O_5 в 0,2 н. HCl вытяжке, мг/100 г

Степень обеспеченности	Зерновые, зернобобовые	Корнеплоды, картофель	Овощные, технические культуры
Очень низкая	< 3	< 8	< 15
Низкая	8	15	20
Средняя	8 - 15	15 - 20	20 - 30
Высокая	> 15	> 20	> 30

Реактивы

1. Раствор *HCl* 0,2 н.: готовят из фиксанала или см. в ПРИЛОЖЕНИИ.
2. Фенолфталеин, 1%-й спиртовой раствор.
3. 5%-й раствор NH_4OH: 215,4 см^3 NH_4OH (уд. вес. 0,91) в колбу объёмом 1 дм^3.
4. 1%-й раствор H_2SO_4.: Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.
5. Сульфатмолибденовая жидкость. Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.
6. Раствор хлористого олова. Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

Определение подвижных соединений фосфора и калия по методу Кирсанова в модификации ЦИНАО (ГОСТ 26207)

Данный метод используют для определения подвижных соединений фосфора и калия в подзолистых, дерново-подзолистых, серых лесных и других почвах, вскрышных и вмещающих породах лесной зоны, но он не распространяется на почвенные горизонты, содержащие карбонаты.

Метод основан на извлечении подвижных соединений фосфора и калия из почвы раствором соляной кислоты концентрации 0,2 моль/дм^3 при отношении почвы к раствору 1:5 для минеральных горизонтов и 1:50 для органических горизонтов и последующем определении фосфора в виде синего фосфорно-молибденового комплекса на фотоэлектроколориметре и калия – на пламенном фотометре.

Ход анализа

Определение фосфора

При анализе проб из минеральных горизонтов почв навески почвы (10 ± 0,1) г помещают в конические колбы и приливают по 50 см^3 раствора соляной кислоты концентрации 0,2 моль/дм^3. Температура экстрагирующего раствора должна быть (18 ± 3)°С.

Почву с раствором перемешивают в течение 1 мин и оставляют на 15 мин. Затем суспензии взбалтывают вручную и фильтруют через бумажные фильтры.

При анализе проб из торфяных и органических горизонтов почв навески почвы массой (1,00 ± 0,01) г помещают в конические колбы и

приливают по 50 $см^3$ экстрагирующего раствора. Почву с раствором взбалтывают в течение 15 мин. Затем фильтруют.

Из фильтратов и растворов сравнения берут по 2 $см^3$. К пробам прибавляют по 38 $см^3$ реактива Б. Окрашенные растворы фотометрируют не менее чем через 10 мин после прибавления реактива Б. Фотометрирование проводят в кювете с толщиной просвечиваемого слоя 0,5 – 1,0 см относительно раствора сравнения N_1 при длине волны 710 нм или используя красный светофильтр с максимумом пропускания в области 600 – 750 нм.

Определение калия

Калий определяют на пламенном фотометре, используя светофильтр с максимумом пропускания в области 766 – 770 нм.

Содержание P_2O_5 и K_2O в анализируемой почве определяют непосредственно по градуировочному графику в $млн^{-1}$.

Допускаемые относительные отклонения от аттестованного значения стандартного образца для доверительной вероятности P= 0,95 при определении P_2O_5 при массовой доле в почве до 30 $млн^{-1}$ – 20%, а св. 30 – 15%. При определении K_2O при массовой доле в почве до 120 $млн^{-1}$ – 15%, а более 120 – 10%.

Реактивы

1. Раствор соляной кислоты концентрации 0,2 моль/$дм^3$ (экстрагирующий). Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ. Допускается использование раствора соляной кислоты концентрации от 0,19 до 0,21 моль/$дм^3$.

2. Раствор с концентрацией P_2O_5 1 г/$дм^3$ и K_2O 2 г/$дм^3$: (1,918 ± 0,001) г однозамещенного фосфорнокислого калия (ГОСТ 4198) и (2,113 ± 0,001) г хлористого калия (ГОСТ 4234) помещают в мерную колбу вместимостью 1 $дм^3$ и растворяют в экстрагирующем растворе, доводя объем до метки.

3. Серия растворов сравнения. В мерные колбы вместимостью 250 $см^3$ помещают указанные в таблице объемы раствора с концентрацией P_2O_5 1 г/$дм^3$ и K_2O 2 г/$дм^3$. Объемы растворов доводят до метки экстрагирующим раствором. Растворы сравнения хранят не более 1 мес.

Характеристика раствора	Номер раствора сравнения						
	1	2	3	4	5	6	7
Объем раствора с концентрацией P_2O_5 1 г/$дм^3$ и K_2O 2 г/$дм^3$	0	1.0	2.5	5,0	7,5	10	12,5
Конц. P_2O_5 в р-рах сравнения, г/$дм^3$	0	0,004	0,010	0,020	0,030	0,040	0,050
Массовая доля P_2O_5 в почве (для минеральных горизонтов), $млн^{-1}$	0	20	50	100	150	200	250
Массовая доля P_2O_5 в почве (для торфян. и орг. горизонтов), $млн^{-1}$	0	200	500	1000	1500	-	-
Конц. K_2O в р-рах сравнения, г/$дм^3$	0	0,008	0,020	0,040	0,060	0,080	0,100
Массовая доля K_2O в почве (для минеральных горизонтов), $млн^{-1}$	0	40	100	200	300	400	500
Массовая доля K_2O в почве (для торфян. и орг. горизонтов), $млн^{-1}$	0	400	1000	2000	-	-	-

4. Реактив А: (6,0 ± 0,1) г молибденовокислого аммония (ГОСТ 3765) и (0,145 ± 0,01) г сурьмяновиннокислого калия («ч.») растворяют соответственно в 200 и 100 $см^3$ воды при слабом нагревании. Охлажденные растворы приливают к 500 $см^3$ раствора серной кислоты (ГОСТ 4204) концентрации 5 моль/$дм^3$ (140 $см^3$ H_2SO_4 уд. вес 1,84, растворить в дистиллированной воде в колбе объёмом 1 $дм^3$). Тщательно перемешать и довести объём суммарного раствора дистиллированной водой до 1 $дм^3$. Раствор хранят в склянке из темного стекла.

5. Реактив Б: (1,00 ± 0,01) г аскорбиновой кислоты растворяют в 170 $см^3$ реактива А и доводят объем раствора водой до 1 $дм^3$.

Определение подвижных форм фосфора по Чирикову

Метод принят стандартным для серых лесных почв и некарбонатных чернозёмов, основан на извлечении подвижного фосфора из почвы 0,5 н. раствором уксусной кислоты при соотношении почва : раствор = 1 : 25.

Ход анализа

На технических весах берут 4 г воздушно-сухой почвы. Перенести почву в колбу объёмом 200 – 250 $см^3$. В колбу прилить 100 $см^3$ 0,5 н. CH_3COOH. Взболтать на ротаторе 1 час и оставить на ночь (18 – 20 ч). Отфильтровать через сухой бумажный беззольный фильтр.

В мерную колбу объемом 50 $см^3$ взять 5–10 $см^3$ исходного раствора в зависимости от ожидаемого содержания фосфора в почве. Довести до метки реактивом Б, хорошо перемешать. После образования синего окрашивания дать раствору постоять 10 мин, после чего колориметрировать на ФЭКе, длина волны 670 нм. Окраска устойчива в течение 24 ч. В случае отсутствия реактива Б окраску вытяжки можно провести так, как описано в методе Кирсанова.

Построение калибровочного графика

По показанию колориметра и концентрации P_2O_5 в образцовых растворах строят калибровочный график, по которому находят концентрацию P_2O_5 в испытуемых растворах и рассчитывают содержание подвижных форм фосфора в почве.

Расчёт

$$Содержание\ P_2O_5,\ _{[мг/100г\ почвы]} = \frac{a \cdot P \cdot 100}{H},$$

где: a – мг фосфора по графику; P – разведение, H – навеска почвы в г; 100 – пересчёт на 100 г почвы.

Пример расчета и форму записи см. в методе Кирсанова на с. 165.

Реактивы

1. 0,5 н. раствор CH_3COOH. Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ. Для анализа допустимы колебания концентрации в пределах 0,49 – 0,51 н.

2. *Реактив А.* Приготовление см. на предыдущей странице.

3. *Реактив Б.* 0,887 г аскорбиновой кислоты растворить в 168 $см^3$ реактива А и довести объём дистиллированной водой до 1 $дм^3$. Готовить в день проведения анализа.

4. Образцовые растворы для построения калибровочного графика: навеску 0,1917 г KH_2PO_4 перекристаллизованного и высушенного при 105°С растворяют в 1 $дм^3$ дистиллированной воды. В 1 $см^3$ стандартного раствора содержится 0,1 мг P_2O_5. Далее готовят рабочий раствор. Для этого берут 10 $см^3$ стандартного раствора и переносят в мерную колбу 100 $см^3$ и доводят до метки. В 1 $см^3$ рабочего раствора содержится 0,01 мг P_2O_5. Из рабочего раствора готовится шкала образцовых растворов в соответствии с таблицей в колбах на 50 $см^3$.

Таблица построения калибровочной шкалы для определения фосфора

№ колбы	1	2	3	4	5	6
Кол-во образцового раствора, $см^3$	1	2	5	10	15	20
Содержание P_2O_5 колбе, мг	0,01	0,02	0,05	0,1	0,15	0,20

13. Обеспеченность почв подвижными фосфатами по содержанию P_2O_5 в 0,5н. CH_3COOH вытяжке, мг P_2O_5/100 г

Степень обеспеченности	Зерновые, зернобобовые	Корнеплоды	Овощные, технические культуры -
Очень низкая	< 2	< 5	< 10
Низкая	5	10	15
Средняя	5 - 10	10 - 15	15 - 20
Высокая	> 10	> 15	> 20

Определение подвижных соединений фосфора и калия по методу Чирикова в модификации ЦИНАО (ГОСТ 26204)

Установленный стандартом метод определения подвижных соединений фосфора и калия в черноземах, серых лесных и других почвах степной и лесостепной зон, не распространяется на почвенные горизонты, содержащие карбонаты.

Метод основан на извлечении подвижных соединений фосфора и калия из почвы раствором уксусной кислоты концентрации 0,5 моль/$дм^3$ при отношении почвы к раствору 1 : 25 и последующем определении фосфора в виде фосфорно-молибденового комплекса на фотоэлектроколориметре и калия на пламенном фотометре.

Ход анализа.

Определение фосфора

Пробы почвы массой (4,0 ± 0,1) г помещают в конические колбы и приливают по 100 $см^3$ раствора уксусной кислоты концентрации 0,5 моль/$дм^3$. Почву с раствором перемешивают в течение 1 ч и оставляют в вертикальном положении на 18 – 20 ч. Затем суспензии взбалтывают вручную и фильтруют через бумажные фильтры.

В конические колбы отбирают по 5 $см^3$ растворов сравнения и вытяжек, к пробам прибавляют по 45 $см^3$ реактива Б. Окрашенные растворы фотометрируют не ранее чем чрез 10 мин после прибавления реактива Б.

Фотометрирование проводят в кювете с толщиной просвечиваемого слоя 2 см относительно раствора сравнения N_1 при длине волны 710 нм или используя красный светофильтр с максимумом пропускания в области 600 – 750 нм.

Определение калия

Калий определяют на пламенном фотометре, используя светофильтр с максимумом пропускания в области 766 – 770 нм.

Содержание P_2O_5 и K_2O в анализируемой почве определяют непосредственно по градуировочному графику.

Допускаемые относительные отклонения от аттестованного значения стандартного образца для двухсторонней доверительной вероятности P = 0,95 при массовой доле P_2O_5 в почве до 50 $млн^{-1}$ – 15%, а более 50 $млн^{-1}$ – 12%, при массовой доле K_2O в почве до 100 $млн^{-1}$ – 15% , а более 100 $млн^{-1}$ – 10%.

Реактивы

1. Раствор уксусной кислоты концентрации $c(CH_3COOH)$ = 0,5 моль в 1 $дм^3$ Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ. Точную концентрацию полученного раствора устанавливают титрованием (см. метод Кирсанова ГОСТ 26207).

2. Реактив А: приготовление см. в методе Кирсанова (ГОСТ 26207).

3. Реактив Б: (1.00 ± 0,01) г аскорбиновой кислоты растворяют в 180 $см^3$ реактива А и доводят объем водой до 1 $дм^3$. Раствор готовят в день проведения анализа.

4. Исходный раствор концентрации P_2O_5 и K_2O 1 г /$дм^3$: (1.918 ± 0.001) г однозамещенного фосфорнокислого калия и (0.532 ± 0.001) г хлористого калия помещают в мерную колбу вместимостью 1 $дм^3$ и растворяют в экстрагирующем растворе. доводя объем до метки. Раствор хранят не более 1 года.

5. Рабочий раствор концентрации P_2O_5 и K_2O 0.1 г/$дм^3$: 10 $см^3$ исходного раствора (см. п. 4) помещают в мерную колбу на 100 $см^3$ и доводят объем до метки экстрагирующим раствором. Раствор хранят не более 3 мес.

6. Серия растворов сравнения. В мерные колбы на 250 $см^3$ помещают указанные в таблице объемы рабочего раствора (см. п. 5). Объемы растворов доводят до метки экстрагирующим раствором. Растворы хранят не более 1 мес.

Характеристика раствора	Номер раствора сравнения						
	1	2	3	4	5	6	7
Объем рабочего раствора (п. 5)	0	2.5	5.0	10	15	20	25
Концентрация P_2O_5 в р-рах сравнения. г/$дм^3$	0	0.001	0.002	0.004	0.006	0.008	0.010
Массовая доля P_2O_5 и K_2O в почве. $млн^{-1}$	0	25	50	100	150	200	250

Определение подвижных форм фосфора по Мачигину

Метод принят стандартным для карбонатных чернозёмов, каштановых, бурых, коричневых почв и серозёмов.

Метод основан на извлечении подвижных соединений фосфора и калия из почвы 1%-м раствором углекислого аммония с pH 9,0 при 25 ± 2°C. Соотношение почва : раствор = 1 : 20.

Ход анализа

5 г воздушно-сухой почвы, просеянной через сито с диаметром отверстий 1 мм, помещают в плоскодонную колбу ёмкостью 200 см^3 и приливают 100 см^3 1%-го раствора $(NH_4)_2CO_3$. Взбалтывают на ротаторе 5 мин. и оставляют настаиваться 18 - 20 ч. при температуре 25 ± 2°C (желательно в термостате).

Суспензию перемешивают и фильтруют через беззольный фильтр. Если фильтрат бесцветен или слабо окрашен, то фосфор в нём определяют без предварительной обработки. Если вытяжка окрашена, то её предварительно обесцвечивают одним из двух ниже описанных методов:

а) Берут 15 см^3 фильтрата в коническую колбу объёмом 100 см^3 из термостойкого стекла. Приливают 2 см^3 27%-й H_2SO_4 и 4 см^3 0,5 н. $KMnO_4$, кипятят 2 мин с момента закипания смеси. Избыток перманганата обесцвечивают, прибавляя к раствору 1 см^3 10%-го раствора глюкозы или аскорбиновой кислоты. После охлаждения раствор фильтруют через беззольный фильтр и определяют фосфор колориметрически.

б) 30–40 см^3 фильтрата помещают в коническую колбу ёмкостью 100 см^3, всыпают 0,1–0,3 г активированного угля, не содержащего фосфор, перемешивают и настаивают 10–20 мин (если раствор не обесцветится, добавить ещё 0,1 г угля), затем фильтруют. Окрашивают бесцветный фильтрат (см. на с. 165) и затем определяют фосфор колориметрически.

Пример расчета и формы записи см. в методе Кирсанова (с. 165).

14. Обеспеченность почв подвижными соединениями фосфора по содержанию P_2O_5 в $(NH_4)_2CO_3$ вытяжке, мг P_2O_5 100г

Степень обеспеченности	Зерновые, хлопчатник	Корнеплоды, картофель	Овощные, технические культуры
Очень низкая	< 1.0	< 1.5	< 3.0
Низкая	1.5	3.0	4.5
Средняя	1.5 - 3.0	3.0 - 4.5	4.5 - 6.0
Высокая	> 3.0	> 4.5	> 6.0

Реактивы

1. Раствор углекислого аммония 1%-й (10 г/дм^3). Приготовление и установку титра см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

2. 27%-й раствор H_2SO_4. 150 см^3 конц. H_2SO_4 (уд. вес 1.84) осторожно влить в ≈ 600 см^3 дистиллированной воды. Перемешать, охладить и довести до 1 дм^3.

3. 0,5 н. раствор $KMnO_4$. 15,8 г соли $KMnO_4$ растворить в дистиллированной воде и объём довести до 1 дм^3.

15. Содержание доступного фосфора в почве (P_2O_5 мг/100 г) и обеспеченность им растений

Обеспеченность растений	Содержание доступного фосфора в почве по методу		
	Кирсанова	Чирикова	Мачигина
очень низкая	2,5	2,0	1,0
низкая	2,6–5,0	2,1–5,0	1,1–1,5
средняя	5,1–10,0	5,1–10,0	1,6–3,0
повышенная	10,1–15,0	10,1–15,0	3,1–4,5
высокая	15,1–25,0	15,1–20,0	4,6–6,0
очень высокая	25,0	20,0	6,0

Определение подвижных соединений фосфора и калия по методу Мачигина в модификации ЦИНАО (ГОСТ 26205)

Стандарт устанавливает метод определения подвижных соединений фосфора и калия в сероземах, серо-бурых, бурых, каштановых, черноземах и других почвах пустынной, полупустынной, сухостепной и степной зон, карбонатных почвах других зон. Стандарт не распространяется на почвенные горизонты, содержащие гипс.

Метод основан на извлечении подвижных соединений фосфора и калия из почвы раствором углекислого аммония концентрации 10 г/дм^3 при отношении почвы к раствору 1 : 20 и последующем определении фосфора в виде синего фосфорно-молибденового комплекса на фотоэлектроколориметре и калия - на пламенном фотометре.

Ход анализа

Пробы почвы массой (5,0 ± 0,1) г помещают в конические колбы и приливают по 100 см^3 раствора углекислого аммония концентрации 10 г/дм^3. Почву с раствором перемешивают в течение 5 мин и оставляют на 18 – 20 ч при температуре (25 ± 2)°С. Затем суспензии взбалтывают вручную и фильтруют через бумажные фильтры.

Определение фосфора

Окрашивание растворов при определении фосфора с окислением органического вещества: отбирают по 15 см^3 растворов сравнения и вытяжек в конические колбы или пробирки из термостойкого стекла. К пробам прибавляют по 2 см^3 смеси серной кислоты и марганцевокислого калия и кипятят раствор в течение 2 мин с момента полного закипания. После охлаждения прибавляют по 36 см^3 реактива Б. Окрашивание растворов без окисления органического вещества.

Отбирают по 15 см^3 растворов сравнения и вытяжек. К пробам прибавляют по 35 см^3 реактива Б.

Окрашенные растворы колориметрируют не ранее чем через 10 мин. и не позднее чем через 2,5 часа после прибавления реактива Б. Фотометрирование проводят в кювете с толщиной просвечиваемого слоя 1,5 – 2 см относительно раствора соавнения № 1 при длине волны 710 нм или используя красный светофильтр с максимумом пропускания в области 600 – 750 нм.

Определение калия

Калий определяют на пламенном фотометре, используя светофильтр с максимумом пропускания в области 766 – 770 нм.

Содержание P_2O_5 и K_2O в почве определяют непосредственно по градуировочному графику.

Допускаемые относительные отклонения от аттестованного значения стандартного образца для двусторонней доверительной вероятности $P = 0,95$ при определении P_2O_5 в почве с массовой долей до 15 млн$^{-1}$ 30%, от 15 до 30 – 20% и более 30 – 15%. При определении K_2O в относительные отклонения при тех же параметрах составляют 10%.

Реактивы

1. Раствор углекислого аммония концентрации 10 г/дм^3 с pH 9,0. Приготовление, установку титра и pH см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

2. Смесь растворов серной кислоты и марганцовокислого калия. Растворы серной кислоты с массовой долей 30% и марганцовокислого калия концентрации 17,5 г/дм^3 смешивают в отношении 1 : 2,5. Раствор готовят в день проведения анализа.

3. Окрашивающий раствор для определения фосфора с окислением органического вещества. Реактив А (приготовление см. в методе Кирсанова). Реактив Б: (2,5 ±0,1) г аскорбиновой кислоты растворяют в 220 см^3 реактива А и доводят объем водой до 1 дм^3. Раствор готовят в день проведения анализа.

4. Окрашивающий раствор для определения фосфора без окисления органического вещества. Реактив А. (6,0 ± 0,1) г молибденовокислого аммония и (0,15 ± 0,01) г сурьмяновиннокислого калия растворяют соответственно в 200 и 100 см^3 воды при слабом нагревании. Охлажденные растворы приливают к 500 см^3 раствора серной кислоты концентрации 6 моль/дм^3 и доводят объем водой до 1 дм^3. Раствор хранят в склянке из темного стекла. Реактив Б: (1,20 ±0,01) г аскорбиновой кислоты растворяют в 220 см^3 реактива А и доводят объем водой до 1 дм^3. Раствор готовят в день проведения анализа.

5. Раствор с концентрацией P_2O_5 0,1 г/дм^3 и K_2O 0,5 г/дм^3: (0,192 ± 0,001) г однозамещенного фосфата калия и (0,686 ± 0,001) г хлористого калия помещают в мерную колбу на 1 дм^3 и растворяют в экстрагирующем растворе, доводя объем до метки. Раствор хранят не более 3 мес.

6. Серия растворов сравнения: в мерные колбы на 250 см^3 помещают указанные в таблице объемы раствора, приготовленного по п. 5. Объемы растворов доводят до метки экстрагирующим раствором.
Растворы сравнения хранят не более 15 дней.

Характеристика раствора	Номер раствора сравнения						
	1	2	3	4	5	6	7
Объем раствора, приготовленного по п. 5, $см^3$	0	1.0	2.0	3.0	5.0	7.5	10
Концентрация P_2O_5 в растворах сравнения, $г/дм^3$	0	0,0004	0,0008	0,0012	0,002	0,003	0,004
Массов. доля P_2O_5 в почве, $млн^{-1}$	0	8,0	16	24	40	60	80
Концентрация K_2O в растворах сравнения, $г/дм^3$	0	0,002	0,004	0,006	0,010	0,015	0,020
Массовая доля K_2O в почве, $млн^{-1}$	0	40	80	120	200	300	400

Метод Эгнера–Рима–Доминго (А–Л -метод)

Метод основан на извлечении из почвы подвижных соединений фосфора смесью молочной и уксусной кислот, забуференных уксуснокислым аммонием до pH 3,7. Полученная лактатно-ацетатно-аммонийная смесь (А – Л) является 0,1 н. по лактату аммония, 0,4 н. по уксусной кислоте. Соотношение почва : раствор = 1 : 20. Метод принят стандартным для почв стран Балтии.

Ход анализа.

На технических весах берут навеску почвы 5 г и помещают в колбу емкостью 200 – 250 $см^3$. Приливают 100 $см^3$ экстрагирующего раствора. Ставят колбу на ротатор и взбалтывают в течение 4 часов.

Отфильтровывают в чистую сухую коническую колбу на 200 – 250 $см^3$. Из фильтрата берут аликвоту 5 – 10 $см^3$ и проводим окрашивание раствора по одному из описанных выше методов.

Обеспеченность почв фосфором по данным этого метода выражается следующими градациями (в P_2O_5 мг/100 г): < 10 – низкая, 10 – 20 – средняя, > 20 – хорошая.

Реактивы

1. Определение концентрации (нормальности) молочной кислоты: 5 $см^3$ 40%-й молочной кислоты переносят в мерную колбу на 100 $см^3$ и доводят до метки дистиллированной водой, перемешивают. Из этой колбы берут пипеткой 5 $см^3$ раствора в колбу объемом 200 – 250 $см^3$, прибавляют 50 $см^3$ дистиллированной воды, 2 капли 1%-го раствора фенолфталеина и оттитровывают 0,1 н раствором гидроокиси натрия до слабо-розовой окраски, не исчезающей в течение 1 мин. Нормальность 40%-й молочной кислоты рассчитывают по формуле $x = н_1 \cdot б \cdot р/а$, где $н_1$ – нормальность раствора щелочи, мг·экв/$см^3$; $б$ – объем щелочи, пошедшей на титрование, $см^3$; $р$ – разведение; $а$ – объем кислоты, взятый для титрования, $см^3$.

2. Экстрагирующий раствор: 7,7 г уксуснокислого аммония растворяют в 500 $см^3$ дистиллированной воды, прибавляют 17,4 $см^3$ ледяной уксусной кислоты и 100 мг-экв молочной кислоты в виде 40%-ного ее раствора. Объем раствора доводят до 1 $дм^3$ дистиллированной водой.

Объем 40%-й молочной кислоты (мл), необходимой для взятия 100 мг·экв, рассчитывают по формуле $X = a : n_1$ где a – количество кислоты, мг·экв (в данном случае равное 100); n_1 – нормальность 40%-й кислоты, мг·экв/см^3.

Полученный экстрагирующий раствор имеет концентрацию 0,1 н. по молочной кислоте, 0,3 н. по уксусной кислоте, 0,1 н. по уксуснокислому аммонию (используется в день приготовления). Если приготовить раствор с концентрацией компонентов в 10 раз выше указанных, его можно хранить в течение месяца. Для анализа такой раствор разбавляют в 10 раз дистиллированной водой.

Метод Ониани

Метод основан на извлечении подвижных форм фосфатов из почвы 0,1 н. раствором серной кислоты при отношении почвы к раствору 1 : 25.

Метод принят стандартом для почв субтропической зоны (красноземов и желтоземов).

Ход анализа

На технических весах берут 4 г воздушно сухой почвы и помещают ее в колбу на 200 – 250 см^3. Приливают 100 см^3 0,1 н. серной кислоты, ставят на ротатор и взбалтывают в течение 3 минут, отфильтровывают.

Берут 5 см^3 фильтрата в коническую колбу на 200 – 250 см^3, прибавляют 95 см^3 окрашивающего раствора, тщательно перемешивают. После окрашивания, спустя 10 мин, фотометрируют.

Расчет см. в методе Кирсанова

Реактивы

1. Раствор серной кислоты 0,1 н. Приготовление, установку см. в ПРИЛОЖЕНИИ.
2. Раствор А: 6,0 г молибденовокислого аммония растворить в 200 см^3 дистиллированной воды. 0,145 г сурьмяновиннокислого калия растворить в 100 см^3 дистиллированной воды. Оба раствора готовят при слабом нагревании. Охлажденные растворы приливают к 500 см^3 5 н. серной кислоты, перемешивают и объем доводят до 1 дм^3 дистиллированной водой.
3. Окрашивающий раствор: 0,887 г аскорбиновой кислоты растворяют в 168 см^3 раствора А. Объем доводят дистиллированной водой до 1 дм^3. Раствор готовят в день проведения анализа.

16. Обеспеченность почв подвижными фосфатами по содержанию P_2O_5 в вытяжке 0,1 н. раствора H_2SO_4, мг\100 г почвы

Обеспеченность	Зерновые, чай	Корнеплоды	Овощные культуры
Очень низкая	< 8	< 15	< 30
Низкая	15	30	45
Средняя	15 – 30	30 – 45	45 – 60
Высокая	> 30	> 45	> 60

Определение подвижных соединений фосфора и калия по методу Ониани в модификации ЦИНАО (ГОСТ 26206)

Стандарт устанавливает метод определения подвижных соединений фосфора и калия в красноземах и других почвах влажных субтропиков. Стандарт не распространяется на почвенные горизонты, содержащие карбонаты.

Метод основан на извлечении фосфора из почвы раствором серной кислоты концентрации 0,1 моль/дм^3 при отношении почвы к раствору 1:25 и последующем определении фосфора в виде синего фосфорно-молибденового комплекса на фотоэлектроколориметре и калия – на пламенном фотометре.

Ход анализа

Пробы почвы массой (4,0 ± 0,1) г пересыпают в конические колбы и приливают дозатором или цилиндром по 100 см^3 раствора серной кислоты концентрации 0,1 моль/дм^3. Почву с раствором перемешивают в течение 3 мин и фильтруют суспензии.

Определение фосфора

Отбирают по 5 см^3 растворов сравнения и фильтратов вытяжек. К пробам прибавляют по 95 см^3 реактива Б и перемешивают. Окрашенные растворы фотометрируют на электрофотоколориметре не ранее чем через 10 мин после прибавления реактива Б в кювете с толщиной просвечиваемого слоя 1 см относительно раствора сравнения № 1 при длине волны 710 нм или используя светофильтр с максимумом пропускания в области 600 – 750 нм.

Определение калия

Калий определяют на пламенном фотометре, используя светофильтр с максимумом пропускания в области 766 – 770 нм.

Содержание P_2O_5 и K_2O в анализируемой почве определяют непосредственно по градуировочному графику.

Допускаемые относительные отклонения от аттестованного стандартного образца для двусторонней доверительной вероятности P = 0,95 при массовой доле P_2O_5 в почве до 20 млн$^{-1}$ – 30%, от 20 до 100 млн$^{-1}$ – 20% и более 100 млн$^{-1}$ – 15%, при массовой доле K_2O в почве до 200 млн$^{-1}$ – 15%, более 200 млн$^{-1}$ – 10%.

Реактивы

1. Раствор серной кислоты концентрации 0,1 моль/дм^3 (см. метод Кирсанова, ГОСТ 26207).

2. Реактивы А и Б – см. метод Кирсанова в модификации ЦИНАО.

3. Приготовление раствора концентрации P_2O_5 и K_2O 1 г/дм^3 - см. метод Чирикова в модификации ЦИНАО (ГОСТ 26204).

4. Серия растворов сравнения. В мерные колбы на 250 см^3 помещают указанные в таблице объемы раствора, приготовленного по п. 3 и доводят объемы до метки экстрагирующим раствором.

Характеристика	Номер раствора сравнения						
	1	2	3	4	5	6	7
Объем раствора, приготовленного по п. 3, $см^3$	0	0,5	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0
Концентрация P_2O_5 и K_2O в растворах сравнения, $г/дм^3$	0	0,002	0,004	0,008	0,012	0,016	0,020
Массовая доля P_2O_5 и K_2O в почве, $млн^{-1}$	0	50	100	200	300	400	500

Метод Олсена

Метод основан на извлечении подвижных фосфатов почвы с помощью 0,5 н. раствора $NaHCO_3$ (pH 8,5), соотношение почва : раствор = 1:20, время взаимодействия 30 мин, температура 25 ± 1°С. Автор рекомендует метод для анализа кислых, нейтральных и карбонатных почв.

Ход анализа

5 г воздушно-сухой почвы, пропущенной через сито с диаметром отверстий 1 – 2 мм, помещают в колбы емкостью 200 – 250 $см^3$. Приливают 100 $см^3$ 0,5 н. раствора $NaHCO_3$, прибавляем 1 – 3 г (меркой) активированного угля; Ставят на ротатор и взбалтывают в течение 30 мин.

Затем фильтруют. (Если фильтрат не обесцветился, то к нему добавляют еще порцию активированного угля, перемешивают, настаивают 10 – 15 мин. и вновь фильтруют. Чтобы уменьшить расход угля, можно обесцвечивать не всю вытяжку, а только ее часть).

5 – 40 $см^3$ бесцветного прозрачного фильтрата при помощи пипетки переносят в мерные колбы на 50 или 100 $см^3$, осторожно нейтрализуют по *b*-динитрофенолу 10%-й HCl (Д. Роуэлл (1998) для нейтрализации раствора предлагает прибавлять по 1 $см^3$ 1,5 м раствора серной кислоты на 5 $см^3$ фильтрата), дают раствору постоять, помешивая его время от времени от руки, чтобы как можно полнее удалить выделяющиеся пузырьки CO_2, и приливают реактивы для окрашивания раствора для фотометрирования (см. метод Чирикова), при этом следует вновь проследить за удалением пузырьков CO_2, чтобы при перемешивании растворы не разбрызгивались и CO_2 не накапливался на стенках кюветы фотоколориметра, что может исказить величину светопоглощения окрашенных растворов, а, следовательно, и результаты определения фосфора.

Обесцвечивание вытяжки $NaHCO_3$ можно проводить и путем ее окисления 0,5 н. раствором $KMnO_4$ с последующим колориметрическим определением фосфора, как описано выше в методе Мачигина.

Автор приводит следующие ориентировочные индексы обеспеченности почв фосфором (мг P_2O_5 на 100 г почвы) для различных сельскохозяйственных культур: < 2,5 – низкая; 2,5 – 5,0 – средняя; 5 – 9 – хорошая; > 9 – высокая.

Расчет содержания фосфора см. в методе Кирсанова.

Реактивы

1. 0,5 н. раствор $NaHCO_3$ с pH 8,5. 42 г соли $NaHCO_3$ растворяют в 500 – 600 $см^3$ теплой дистиллированной воды, переносят в мерную колбу на 1 л и после охлаждения доводят водой до метки, перемешивают. Затем проверяют значение pH и, если необходимо, доводят до нужной величины с помощью 0,1 – 0,5 н. раствора NaOH.
2. Реактивы для окисления, обесцвечивания см. в методе Мачигина.
3. Реактивы для колориметрического определения фосфора см. в методе Чирикова.

Определение «водорастворимого» фосфора (модификация Шахтшабеля)

Фосфор определяют из водной вытяжки при соотношении почва : вода = 1 : 50 модифицированным методом.

Ход анализа

4 г воздушно-сухой почвы, пропущенной через сито с отверстиями диаметром 2 мм, помещают в почвенную колбу емкостью 250 $см^3$, приливают 200 $см^3$ дистиллированной воды с температурой 25 ± 1°С и взбалтывают на ротаторе в течение 2 ч.

Из вытяжки центрифугируют примерно 30 $см^3$ при числе оборотов не менее 3500 в мин в течение 10 мин. Мутный (с опалесценцией) раствор переносят в колбу на 50 $см^3$ и взбалтывают с 0,1 г смеси активированного угля и NH_4Cl при соотношении 1 : 1. После десятиминутного стояния раствор фильтруют через складчатый фильтр, лишенный фосфора.

Из совершенно прозрачного фильтрата пипеткой берут 20 $см^3$ и переносят в мерную колбу на 50 или 100 $см^3$ и проводят окрашивание для последующего колориметрирования (см. в методе Чирикова) на фотоэлектроколориметре.

Расчет см. в методе Кирсанова.

Реактивы

1. Дистиллированная (или деионизированная) вода, без CO_2, температура 25±1°С.
2. Активированный уголь, «х.ч.» (без фосфора).
3. NH_4Cl, «х.ч.».
4. Реактивы для окрашивания см. в методе Чирикова.

Метод Брейя и Куртца

Метод основан на извлечении подвижных и обменных фосфатов почвы смесью 0,03 н. раствора NH_4F и 0,025 н. HCl, pH 2,9, при соотношении почва : раствор = 1 : 7, и времени взбалтывания 1 мин.

Чтобы снизить вторичное осаждение и получить более высокие абсолютные значения содержания фосфора в вытяжках, ряд авторов

предлагают использовать более широкое соотношение почва : раствор = 1 : 30.

Метод рекомендуется для анализа кислых, нейтральных и карбонатных почв.

В настоящее время стандартным для оценки кислых почв в ряде западных стран стал реактив Bray-1 с pH 3,7 (Янишевский, 1996).

Ход анализа

5 г воздушно-сухой почвы (сито d = 1 – 2 мм) помещают в плоскодонные колбы емкостью 50 $см^3$, приливают 35 $см^3$ экстрагирующей смеси 0,03 н. NH_4F и 0,025 н. HCl, взбалтывают 1 мин, фильтруют.

5 $см^3$ прозрачного фильтрата помещают в мерную колбу на 50 $см^3$, разбавляют дистиллированной примерно до 40 $см^3$, приливают реактивы для колориметрирования фосфора.

Авторы установили хорошее соответствие между показаниями содержания растворимых фосфатов в данной вытяжке и эффективностью фосфорных удобрений.

Для предлагаемого ими метода они рекомендуют следующие индексы обеспеченности почв по фосфору (мг P_2O_5 на 100 г почвы): < 3 – очень низкая, 3 – 7 – низкая, 7 – 20 – средняя, > 20 – высокая.

Реактивы.

1. Экстрагирующий раствор. 1,11 г соли NH_4F растворяют в 500 $см^3$ теплой дистиллированной воды, приливают сюда же 2,5 $см^3$ концентрированной HCl (d =1,19), переносят в мерную колбу на 1 $дм^3$ и доводят до метки, перемешивают.

2. При приготовлении экстрагирующего раствора с pH 3,7 1,11 г соли NH_4F растворяют в 500 $см^3$ теплой дистиллированной воды, прибавляют несколько капель фенолфталеина и при необходимости добавляют 10 – 20%-й раствор NH_4OH до появления слабо-розовой окраски, прибавляют 2,5 $см^3$ концентрированной HCl и доводят до 1 $дм^3$. Такой раствор имеет pH 3,7.

Определение степени подвижности фосфатов почвы (фактор «интенсивности») по методу Карпинского и Замятиной

Метод основан на определении концентрации ортофосфата в вытяжке 0,015 М раствора K_2SO_4.

Соотношение почва : раствор = 1 : 5. Данная вытяжка извлекает из почвы в 1,5 – 2 раза больше фосфора, чем раствор 0,01 М $CaCl_2$.

Метод используют для определения степени подвижности фосфатов («фосфатного уровня») на почвах с кислой и нейтральной реакцией среды.

Для почв нечерноземной полосы авторы установили следующие ориентировочные индексы обеспеченности по фосфору для 0,015 М K_2SO_4-вытяжки (мг P_2O_5 на 1 $дм^3$): 1) 0,01–0,03 – очень низкая; 2) 0,06–0,08 – средняя; 3) более 0,2 – высокая .

Ход анализа.

20 г воздушно-сухой почвы помещают в плоскодонные колбы емкостью 250 $см^3$, приливают 10 $см^3$ раствора K_2SO_4, взбалтывают 5 мин, фильтруют и определяют фосфор колориметрически.

Если необходимо, фильтрат концентрируют упариванием до небольшого объема, но не более чем в 2 раза, чтобы избежать выпадения солей из раствора.

Результаты анализов выражают в милиграммах P_2O_5 на 1 $дм^3$ раствора.

Реактив. Извлекающий раствор – 0,015 М K_2SO_4: 2,6 г соли растворяют в дистиллированной воде, объем доводят до 1 $дм^3$, перемешивают.

Определение группового состава фосфатов в почве

В зависимости от генетического типа почв состав минеральных форм фосфатов в них различен. В карбонатных и переизвесткованных почвах преобладают разнообразные формы фосфатов кальция (ди-, октакальцийфосфаты и др.), в слабокислых почвах – фосфаты кальция и полуторных окислов (гидроксила, фторапатитов, варисцита и др.), в кислых почвах – фосфаты полуторных окислов (R_2O_3 – варисцита, стренгита, баррандита и др.). Исследователями было выделено и идентифицировано около 200 различных минеральных соединений фосфора, устойчивость которых зависит от почвенных условий, в частности от кислотности, активности катионов (Ca^{2+}, Mg^{2+}, Al^{3+}, Fe^{3+}), применяемых удобрений, известкования, гипсования, орошения и т.д. В связи с этим одна и та же форма фосфорного соединения в различных почвенных условиях может иметь различную ценность для питания растений.

Для определения минеральных форм фосфатов в почвах у нас в стране широко используются методы Чирикова (1939, 1947), Чанга-Джексона (1957) и Гинзбург-Лебедевой (1971). Метод Чирикова основан на том, что навески почвы многократно обрабатываются различными кислотами – слабой 0,06 н. H_2CO_3, более крепкой 0,5 н. CH_3COOH и еще более сильной 0,5 н. HCl – до полного вытеснения фосфатов из почвы данным растворителем. В результате в раствор переходят отдельные группы соединений почвенных фосфатов, различающихся по растворимости и доступности растениям. Одновременно после обработки почвы

0,5 н. раствором соляной кислоты выделяют с помощью 3 н. раствора аммиака (NH_4OH) фракцию органических кислот. По разности между содержанием валового фосфора в почве и суммой извлеченных органических и минеральных форм фосфора в почве определяют содержание группы труднорастворимых фосфатов почвы.

Метод Чирикова

Группа *	Растворитель	Предполагаемые фосфаты, входящие в группу
1	Дистиллированная вода, насыщенная углекислым газом (0,05 - 0,06 н. CO_2)	Все фосфаты щелочных металлов и аммония. Кислые фосфаты Са и Mg. Свежеосажденный $Mg_3(PO_4)_2$ и частично $Ca_3(PO_4)_2$
2	0,5 н. раствор уксусной кислоты	$Ca_3(PO_4)_2$, частично фосфорит и апатит, частично $AlPO_4$
3	0,5 н. раствор соляной кислоты	Фосфориты и апатиты. Фосфаты железа и алюминия, основные фосфаты железа и алюминия
4	3,0 н. раствор NH_4OH	Нуклеины, нуклеопротеиды, комплексные соединения фосфатов и гуминовых кислот
5	Фосфаты, не растворившиеся в предыдущих растворителях	Фосфаты невыветрившихся минералов материнской породы

Группа * – группа фосфатов по .

Углекислая вытяжка

2 г воздушно-сухой почвы, просеянной через сито с диаметром отверстий 0,25 мм, помещают в колбу, приливают 50 $см^3$ дистиллированной воды насыщенной до 0,05–0,06 н. CO_2. Ставят на ротатор и взбалтывают в течение 2 ч (или 1 ч на ротаторе и настаивают 24 часа).

Полученную вытяжку фильтруют в мерную колбу на 200 $см^3$. Почву на фильтре промывают небольшими порциями (по 10 $см^3$) того же растворителя. Доводят объем до метки и перемешивают (это раствор А).

Уксуснокислая вытяжка

2 г воздушно-сухой почвы помещают в колбу; приливают 50 $см^3$ 0,5 н. раствора уксусной кислоты (CH_3COOH); ставят на ротатор и взбалтывают в течение 2 ч (или 1 ч на ротаторе и настаивать 24 ч).

Полученную вытяжку фильтруют в мерную колбу на 200 $см^3$. Почву на фильтре промывают небольшими порциями (по 10 $см^3$) того же растворителя (0,5 н. раствор CH_3COOH). Доводят объем до метки и перемешивают (это раствор Б).

Солянокислая вытяжка

2 г воздушно-сухой почвы помещают в колбу и приливают 50 $см^3$ 0,5 н. раствора соляной кислоты. Экстракцию проводят так же, как и в первых двух случаях. Получают раствор В.

Аммонийная вытяжка

Остаток почвы после экстракции 0,5 н. раствором соляной кислоты переносят вместе с фильтром в колбу Эрленмейера объемом 100 $см^3$, приливают 50 $см^3$ 3 н. раствора NH_4OH, активно перемешивают, закрывают воронкой. Колбы ставят на водяную баню и ведут экстракцию в течение 5 часов при температуре 70 – 80°С.

После этого почву количественно переносят в мерную колбу на 200 $см^3$ и доводят до метки 3 н. раствором NH_4OH, перемешивают, дают отстояться и фильтруют при разряжении через плотный фильтр с синей лентой на воронке Бюхнера или через фильтр Нутча № 4, погружая последний в аммиачную вытяжку.

10 – 20 $см^3$ прозрачного фильтрата переносят в плоскодонную колбу на 50 $см^3$, добавляя по каплям 2 н. H_2SO_4 до выпадения хлопьев гуминовой кислоты, помещают колбу на электроплитку с закрытой спиралью и выпаривают смесь досуха, избегая пересушивания;

К сухому остатку приливают 3 – 5 $см^3$ $HClO_4$ (30 – 72%) и нагревают на плитке до полного обесцвечивания раствора.

После охлаждения раствор переносят количественно водой в мерную колбу на 50 или 100 $см^3$, еще раз охлаждают, доводят до метки и перемешивают.

Берут 5 – 20 $см^3$ раствора в мерную колбу на 50 или 100 $см^3$, разбавляют водой (до половины объема колбы), нейтрализуют.

После определения содержания фосфора в полученных вытяжках одним из описанных выше методов проводят *вычисление содержания фракций фосфора в почве.*

1. Содержание фосфатов 1-й группы определяют по содержанию фосфора в H_2CO_3 вытяжке (раствор А).

2. Суммарное содержание фосфатов 1-й и 2-й групп определяют по содержанию фосфора в вытяжке 0,5 н. CH_3COOH (раствор Б).

3. Содержание фосфатов 2-й группы определяют по разности между содержанием фосфора в растворах Б и А.

4. Содержание фосфатов 3-й группы определяют по разности между содержанием фосфора в 0,5 н. HCl и 0,5 н. CH_3COOH (растворы В и Б).

5. Содержание фосфатов 4-й группы (органические) определяют по содержанию фосфора в аммонийной вытяжке.

6. Содержание фосфатов 5-й группы определяют по разности между содержанием валового фосфора почвы и суммой фосфатов, перешедших в солянокислую и аммонийную вытяжки.

Расчет см. в методе Кирсанова.

Реактивы

1. 0,5 н HCl.
2. 0,5 н. CH_3COOH.
3. 3 н. NH_4OH.
4. 2 н. H_2SO_4.
5. 0,05 - 0,06 н. H_2CO_3.
6. $HClO_4$ конц.

Метод Гинзбург - Лебедевой

Метод основан на том, что навеску почвы обрабатывают последовательно различными растворителями.

1. Первая вытяжка аммонийно-молибденовая – фракция кальций-фосфаты (фракция Ca–PI).
2. Ацетатно-молибденовая (фракция Ca–PII).
3. Фторидная фракция алюмофосфатов.
4. 0,1 н. NaOH (фракция Fe–P).
5. 0,5 н. H_2SO_4 (фракция Ca–PIII).

В практике агрохимических исследований наибольшее распространение получило фракционирование минеральных форм фосфатов по методу Чанга-Джексона.

Метод Чанга-Джексона

Метод основан на последовательной обработке навески почвы различными растворителями, каждый из которых извлекает определенные фракции минеральных фосфатов почвы (рыхло связанные фосфаты, Al–P, Fe–P, Ca–P и др.). Соотношение почва : раствор = 1:50.

Ход анализа.

I. Приготовление 1 н. NH_4Cl вытяжки (рыхлосвязанные фосфаты)

На аналитических весах берут 0,5 г почвы, просеянной через сито (0,25 мм). Почву переносят в центрифужные пробирки емкостью 50 $см^3$. Приливают цилиндром 50 $см^3$ 1 н. NH_4Cl. Уравновешивают пробирки с раствором попарно на технических весах (приливая немного раствора) для центифугирования. Закрывают корковыми пробками и взбалтывают на ротаторе 30 мин. Пробирки (уравновешенные попарно) опускают в центрифугу и центрифугируют 10 мин со скоростью 2 – 3 тыс. об./мин.

Прозрачный раствор сливают в плоскодонные колбы на 100 $см^3$. Пипеткой берут 20 мл центрифугата в мерные колбы на 50 $см^3$ для колориметрического определения фосфора.

II. Приготовление 0,5 н. NH_4F вытяжки (фракция алюмофосфатов)

К остатку почвы в центрифужные полиэтиленовые пробирки приливают цилиндром 50 $см^3$ 0,5 н. NH_4F (pH 8,5). Пробирки закрывают пробками, взбалтывают 1 час на ротаторе. Уравновесив пробирки с

раствором на технических весах, центрифугируют 10 мин со скоростью 2 – 3 тыс. об./мин. Прозрачный центрифугат сливают в плоскодонные колбы на 50 $см^3$. Добавляют 0,15 – 0,20 мг активированного угля (для обесцвечивания жидкости), взбалтывают и оставляют на 20 мин.

Раствор фильтруют через плотный фильтр в полиэтиленовую или стеклянную пропарафинированную посуду.

Пипеткой берут 10 $см^3$ вытяжки в мерные колбы на 50 $см^3$, разбавляют водой до 30 $см^3$. Пипеткой добавляют в мерные колбы 0,8 М раствор H_3BO_3 для связывания фтора в боратный комплекс $NH_4(BF_4)$ и прибавляют 3 капли *р*-динитрофенола (индикатор). По каплям из пипетки прибавляют 2 н. раствора H_2SO_4 до обесцвечивания раствора.

Приливают пипеткой 2 $см^3$ сульфатмолибденовой жидкости, перемешивают. Добавляют 3 капли хлористого олова, перемешивают.

Раствор в колбах доводят до метки водой и колориметрируют при красном светофильтре в кюветах на 20 мм.

Примечание. Хранят фтораммонийную вытяжку в стеклянной посуде не рекомендуется, т.к. NH_4F способен выщелачивать из стекла кремневую кислоту, которая повышает результаты колориметрического определения фосфора в вытяжке. Шкалу образцовых растворов фосфата готовить с добавлением ней 0,5 н. NH_4F в таком же количестве, какое берется для определения испытуемого раствора, затем также прилить 10 $см^3$ 0,8 М раствора H_3BO_3 и реактивы для окрашивания растворов.

К остатку почвы в центрифужные пробирки приливают 25 $см^3$ насыщенного раствора NaCl для удаления механически задержанного раствора фторидной вытяжки. Взбалтывают на ротаторе центрифужные пробирки с растворами NaCl 15 мин, центрифугат и надосадочный раствор выливают. Осадок почвы из пробирок использовать для приготовления щелочной вытяжки.

III. Приготовление 0,1 н. NaOH вытяжки (фракция железофосфаты)

К осадку почвы в центрифужную пробирку приливают 50 $см^3$ 0,1 н. раствора NaOH. Пробирки закрывают корковыми пробками и взбалтывают на ротаторе 2 часа, настаивают раствор в пробирках 18 – 20 ч.

Центрифугируют (предварительно уравновесив пробирки с испытуемым раствором) 10 мин при скорости 2 – 3 тыс. об./мин. Фильтрат сливают в плоскодонные колбы на 50 $см^3$.

В колбы к фильтрату приливают 12 $см^3$ концентрированной H_2SO_4, а затем по каплям до начала коагуляции прибавляют гуминовую кислоту.

Раствор переносят в чистые центрифужные пробирки и повторно центрифугируют 10 мин.

Пипеткой переносят 2 – 5 $см^3$ раствора (центрифугата) в мерную колбу на 50 $см^3$, разбавляют водой до 50 $см^3$, прибавляют 2 – 3 капли *р*-динитрофенола. Нейтрализуют 2 н. NaOH или 10%-м раствором аммиака до тех пор, пока *р*-динитрофенол не окрасится в желтый цвет. Прибавляют пипеткой по каплям 2 н. H_2SO_4 до обесцвечивания раствора.

Добавляют
2 $см^3$ сульфатмолибденовой жидкости, перемешивают. Пипеткой приливают 2 капли хлористого олова, перемешивают, дистиллированной водой доводят до черты, перемешивают и колориметрируют через 10 – 15 мин.

IV. Приготовление 0,5 н. H_2SO_4 вытяжки (фракция Ca-P).

В центрифужные пробирки к остатку почвы приливают насыщенный раствор NaCl и центрифугируют. Надосадочную жидкость выливают. Эту операцию повторяют дважды. К остатку почвы в центрифужные пробирки приливают 50 $см^3$ 0,5 н. раствора H_2SO_4. Взбалтывают на ротаторе 1 ч. Пробирки с раствором переносят в центрифугу и центрифугируют 10 мин при 2 – 3 тыс. об./мин. Центрифугат переносят в конические колбы на 50 $см^3$.

Пипеткой берут 5 $см^3$ раствора в мерную колбу на 50 $см^3$ и приливают дистиллированной воды до 30 $см^3$. Раствор нейтрализовать по *р*-динитрофенолу до желтого цвета. Далее определение фосфора проводят так же, как и при определении вышеуказанных фракций.

Примечание. В почвах, богатых подвижными формами железа, в вытяжку могут переходить значительные их количества и окрашивать раствор в желтый цвет. Если в испытуемом растворе железа содержится более 1,8 мг, то наблюдается быстрое обесцвечивание фосфорно-молибденовой сини или появление зеленого оттенка. Можно проверить, как влияют ионы железа на результаты анализа: берутся две аликвоты с одинаковым количеством исходного раствора. К одной из них добавляется стандартный раствор фосфора. Затем определяется содержание фосфора в обеих вытяжках. Полное определение количества добавленного фосфора свидетельствует о том, что Fe-ионы не влияют, меньшее его содержание показывает на влияние ионов Fe^{3+}. В этом случае в испытуемом растворе перед колориметрированием необходимо осадить железо по методу Уоррена и Пью (см. с. 162).

Расчет фосфора (в мг/100 г почвы) производят по формуле

$$P_2O_5 = \frac{a \cdot P \cdot 100 \cdot K}{H},$$

где: a – мг P_2O_5 по графику; P – разведение при колориметрировании; K – коэффициент влажности почвы; H – навеска почвы, г.

Реактивы

1. 1 н. раствор NH_4Cl: 53,5 г соли растворить в дистиллированной воде, долить до 1 $дм^3$, перемешать.
2. 0,5 н. раствор NH_4F: 18,5 г соли растворить в дистиллированной воде, долить до 1 $дм^3$, перемешать.
3. 0,5 н. раствор H_2SO_4: 14 $см^3$ H_2SO_4 (d 1,84) осторожно приливать к 700 $см^3$ воды, охладить, долить до 1 $дм^3$, перемешать.
4. Насыщенный раствор NaCl: 400 г соли растворить в 1 $дм^3$ дистиллированной воды.

5. 0,8 М раствор H_3BO_3: 50 г H_3BO_3 растворить в 1 дм^3 горячей дистиллированной воды.

6. 0,1 н. раствор NaOH: 4 г NaOH растворить в дистиллированной воде, довести объем до 1 дм^3, перемешать.

Схема выделения минеральных форм фосфора по методу Чанга-Джексона

Группа фосфора. Фракции фосфора	Растворители	Предполагаемые формы
I. Воднорастворимые рыхлосвязанные	1н. NH_4Cl	часть водорастворимых фосфатов
II. Фосфаты алюминия (Al-P)	0,5 н. NH_4F pH 8,5	$AlPO_4$ (типа варисцита, вавеллита и др. кислые фосфаты кальция-магния значительно, $Ca_3(PO_4)_2$ – частично, Fe^{3+}–P – частично, органофосфаты – частично.
III. Фосфаты железа (Fe-P)	0,1 н. NaOH	$FePO_4$ (типа стренгита, дифренита и др.), Al-P - переосажденный в предыдущей вытяжке, органофосфаты – значительно
IV. Фосфаты кальция (Ca-P)	0,5 н. H_2SO_4	Разноосновные Ca–P, типа ди-,три-октакальцийфосфата, аппатита); Al–P, Fe–P, переосажденные в предыдущих вытяжках
V. Восстановленно-растворимые Fe–P (окклюдированные окислами железа)	0,3 н. $Na_3C_6H_5O_7$ 1 М $NaHCO_3$ 1 г $Na_2S_2O_4$	труднорастворимые фосфаты Fe, заключенные в почвенных агрегатах или конкрециях, покрытых пленками окислов железа, разрушающихся при восстановлении их дитионитом натрия в щелочной среде в цитратной вытяжке; органофосфаты
Окклюдиованные Al–P pH 8,5	0,5 н. NH_4F	$AlPO_4$
Окклюдированные Al–Fe–P	0,1 н. NaOH	$Al(Fe)PO_4$ (типа баррандита), органофосфаты
Фвосфор в остатке		фосфаты невыветрившихся минералов материнской породы, трудногидролизуемые фосфор-гумусовые комплексы

Примечание. Метод не рекомендуется применять на нейтральных и слабокислых почвах.

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ КАЛИЯ В ПОЧВЕ

Общее содержание калия в почвах находится в пределах от 1% – в дерново-подзолистых супесчаных почвах до 2,4% в мощных черноземах.

Основная масса почвенного калия представлена различными калийсодержащими минералами: полевым шпатом, слюдами, лейцитом и др. Этот калий является практически недоступным для питания растений.

Растения в процессе питания усваивают наиболее подвижные формы (калий почвенного раствора, обменный). В процессе питания растений вовлекаются и необменные формы калия. Поэтому при характеристике плодородия почв в отношении калия надо учитывать не только калий почвенного раствора и обменный, но и необменные его формы, которые служат резервом плодородия почвы в отношении калия.

Для характеристики калийного режима почв необходимо не только знать количественное содержание подвижных соединений калия в почве, но и иметь показатели, характеризующие степень его доступности. Такими показателями могут служить калийный потенциал (фактор интенсивности), потенциальная буферная способность почв в отношении калия.

Легкоподвижные легкоусвояемые формы калия (водорастворимый калий)

Водорастворимый калий в почве определяют для количественной характеристики содержания калия в почвенном растворе. Это калий, входящий в состав простых солей (хлоридов, сульфатов, нитратов и т.д.) находящихся в растворе в условиях естественной влажности, и сложных (силикатов и алюмосиликатов), переходящий в вытяжку при широком соотношении почва : вода.

Для незасоленных почв водная вытяжка в определенной мере отражает содержание калия в почвенном растворе. Для засоленных почв она используется для установления степени и характера засоления почв.

Содержание водорастворимого калия в незасоленных почвах обычно менее 10 мг на 1 кг почвы. Оно не характеризует плодородия почвы по калию, однако эта вытяжка широко используется при исследовании форм соединений калия, степени окультуренности и удобренности почв.

Ход анализа

10 г воздушно-сухой почвы, просеянной через сито с диаметром отверстий 1 мм, помещают в колбу. Приливают 50 $см^3$ предварительно прокипяченной дистиллированной воды, взбалтывают на ротаторе в течение 3 мин и фильтруют в сухую химическую посуду.

Определение содержания калия в фильтрате проводят на пламенном фотометре.

Расчеты см. далее, на с. 190-191.

Определение обменных форм калия в почве

Калий в почве находится в виде различных минералов и солей, степень растворимости которых и доступность их калия для растений неодинаковы. Различают следующие формы калия в почве:

1. Калий почвенных минералов, в том числе алюмосиликатов, основная часть почвенного калия представлена этой формой, она труднодоступна растениям.
2. Калий, поглощённый почвенными коллоидами, или обменный калий, – главный источник калийного питания для растений, содержание его от 5 до 50 мг на 100 г почвы, оно увеличивается в почвах тяжёлого гранулометрического состава и снижается на лёгких супесчаных почвах.
3. Водорастворимый калий представлен растворимыми солями, обнаруживается в почве в минимальных количествах, так как полностью поглощается растениями и микроорганизмами.
4. Калий, входящий в состав микробных клеток и органических остатков, доступен растениям после их минерализации (содержание в почве – около 40 кг/га);
5. Калий, фиксированный почвой, или необменный. Особенно активно калий закрепляется почвой при наличии в ней глинистых минералов. Высокое содержание органического вещества в почве, а также её известкование усиливают закрепление калия в необменной форме.

В каждой почве между обменным и необменным калием существует динамическое равновесие. Поглощение растениями обменного калия приводит к реализации необменного калия и переходу последнего в обменное состояние. Таким образом, необменный калий является резервным в питании растений. При внесении калийных удобрений часть калия потребляется растением, а часть необменно закрепляется в почве. Фиксация калия усиливается при переменном увлажнении и высушивании почвы.

Установлена достаточно тесная зависимость между урожаем растений и содержанием обменного калия в почве. В связи с этим при прогнозировании действия удобрений учитывают содержание обменного калия.

При определении обеспеченности почв калием и расчёте доз калийных удобрений в качестве показателя широко применяется содержание обменного калия.

Метод Масловой

Метод основан на извлечении калия из почв 1,0 н. раствором уксуснокислого аммония с pH 7,0 при соотношении почва : раствор = 1:10. Метод рекомендован для определения обменного калия в некарбонатных почвах (дерново-подзолистых, серых лесных, черноземах, красноземах, желтоземах).

Ход анализа

5 г воздушно-сухой почвы, просеянной через сито с диаметром отверстий 1 мм помещают в колбу, приливают 50 $см^3$ 1,0 н. раствора уксуснокислого аммония (pH 7,0). Взбалтывают на ротаторе в течение 1 ч и фильтруют в сухую химическую посуду.

Определение калия в фильтрате проводят на пламенном фотометре.

Реактивы:

1. 1,0 н. раствор CH_3COONH_4: 77,1 г CH_3COONH_4 растворяют в 900 $см^3$ бидистиллята. После установления pH (доводят до pH 7,0, добавляя по каплям 10%-е растворы CH_3COOH или NH_4OH) объем доводят до 1 $дм^3$ в мерной колбе.

* *Расчеты* см. на с. 190 – 191.

Определение обменного калия по Кирсанову

Этот *метод рекомендован* как стандартный для определения калия (и фосфора) в подзолистых, дерново-подзолистых и серых лесных почвах. Метод основан на извлечении калия и фосфора из почвы 0,2 н. раствором *HCl* при соотношении почва : раствор = 1:5. Содержание переведённого в раствор калия определяется на пламенном фотометре.

Приготовление вытяжки и реактивов описано на стр. 165 – 167.

Определение обменного калия по Чирикову

Метод рекомендован как стандартный для определения калия (и фосфора) в некарбонатных чернозёмах и серых лесных почвах, основан на извлечении калия и фосфора из почвы 0.5 н. раствором уксусной кислоты при соотношении почва : раствор = 1:25. Переведённый в раствор калий определяется на пламенном фотометре.

Приготовление вытяжки и реактивов описано на с. 168 – 170.

Метод Мачигина

Метод основан на извлечении калия (и фосфора) из почвы 1%-м раствором углекислого аммония при соотношении почва : раствор = 1:20. Он принят как стандарт для определения калия (и фосфора) в черноземах, сероземах, каштановых и бурых почвах.

Приготовление вытяжки и реактивов описано на с. 171 – 173.

Метод Эгнера–Рима–Доминго

Метод основан на извлечении подвижных форм калия (и фосфора) из почвы буферным раствором с pH 3,7, содержащим молочную кислоту, уксусную и уксуснокислый аммоний при соотношении почвы : раствор = 1:20.

Метод принят как стандарт для определения калия (и фосфора) в почвах стран Балтии.

Приготовление вытяжек и реактивов описано в разделе определения подвижных форм фосфора (см. на с. 174).

На основании полевых опытов и лабораторных исследований, проведенных в Германии, установлены классы обеспеченности почв калием, определяемым по методу Эгнера–Рима–Доминго, которые представлены в таблице 17.

17. Обеспеченность почв калием по результатам анализов по методу Эгнера–Рима–Доминго (мг K_2O на 100 г почвы)

Класс обеспеченности	Содержание	Почвы по механическому составу		
		легкие	суглинки	тяжелые
III	Низкое	< 6	< 12	< 18
II	Среднее	6 – 12	12 – 18	18 – 24
I	Высокое	> 12	> 18	> 24

Метод Ониани

Метод основан на извлечении подвижных форм калия (и фосфора) из почвы 0,1 н. раствором серной кислоты при соотношении почва : раствор = 1:25.

Метод принят как стандарт для определения калия (и фосфора) в красноземах, желтоземах и субтропических подзолистых почвах.

Приготовление вытяжек и реактивов описано в разделе определения подвижных форм фосфора (см. на с. 175).

Извлечённый одним из описанных выше способов из почвы калий, определяется на пламенном фотометре ПФМ-I или FLAPHO-4. Параллельно с определением содержания калия в почвенных вытяжках строят калибровочный график. Его строят по показаниям пламенного фотометра и концентрации K_2O в образцовых растворах. По калибровочному графику находят концентрацию K_2O в испытуемых растворах и рассчитывают содержание обменного калия в мг на 100 г почвы.

Расчёт

$$\textit{Содержание } K_2O, \textit{ [мг/100г почвы]} = \frac{a \cdot P \cdot 100}{H},$$

где a – мг K_2O по графику; P – разведение испытуемого раствора; H – навеска почвы, г.

Пример расчета

Показание прибора – 40, содержание K_2O по графику – 0,01, разведение – 10 (50/5).

Содержание $K_2O = 0{,}1 \cdot 10 \cdot 100 : 10 = 10$ (мг на 100 г почвы)

Расчёт концентрации калия в испытуемом растворе можно провести также по методу ограничивающих эталонов, используя следующую формулу

$$C_x = C_1 + \frac{a_0 - a_1}{a_2 - a_1} \cdot (C_2 - C_1),$$

где: C_1 – меньшая концентрация образцового раствора; a_1 – показания гальванометра пламенного фотометра для образцового раствора меньшей концентрации; C_2 – большая концентрация образцового раствора; a_2 – показания гальванометра пламенного фотометра для образцового раствора большей концентрации; C_x – концентрация испытуемого раствора; a_0 – показание гальванометра для испытуемого раствора.

$$\textit{Содержание } K_2O, \textit{ [мг/100г почвы]} = \frac{C_x \cdot P \cdot 100}{H},$$

где: P – разведение испытуемого раствора; H – навеска почвы, г.

Если фильтрат окажется очень концентрированным по содержанию калия (так называемое «зашкаливание прибора»), следует провести разведение: для этого берут 1,5 – 10 $см^3$ фильтрата, в зависимости от концентрации калия в растворе, в мерную колбу на 50 или 100 $см^3$ и доводят дистиллированной водой до метки. Хорошо перемешивают и проводят определение на пламенном фотометре. Дополнительное разведение учитывают при расчёте.

Приготовление калибровочной шкалы

Стандартный раствор: Навеску 0,7915 г дважды перекристаллизованного *KCl* растворяют в 1 $дм^3$ раствора-вытеснителя, можно в дистиллированной воде при отсутствии калия в реактивах. В 1 $см^3$ стандартного раствора содержится 0,5 мг K_2O.

Рабочий раствор: 10 $см^3$ стандартного раствора помещают в мерную колбу на 100 $см^3$ и доводят раствором-вытеснителем или дистиллированной водой до метки, перемешивают. Из рабочего раствора готовят шкалу образцовых растворов в колбах на 50 или 100 $см^3$ в соответствии с таблицей:

№ колбы	1	2	3	4	5	6	7
кол-во образцового раствора, $см^3$	1	2	5	10	15	20	25
содержание K_2O в колбе, мг	0,05	0,10	0,25	0,5	0,75	1,0	1,25

По обобщённым результатам агрохимического картирования в системе агрохимслужбы приняты следующие группировки почв. Стандартизация введена в 1978 году.

18. Содержание обменного калия в почве (K_2O мг/100 г) и обеспеченность им растений

Обеспеченность растений	Содержание обменного калия в почве по методу		
	Кирсанова	*Чирикова*	*Мачигина*
Очень низкая	4,0	2,0	5,0
низкая	4,1-8,0	2,1-4,0	5,1-10,5
средняя	8,1-12,0	4,1-8,0	10,1-20,0
повышенная	12,1-17,0	8,1-12,0	20,1-30,0
высокая	17,1-25,0	12,1-18,0	30,1-40,0
очень высокая	25,0	18,0	40,0

Среднее содержание элемента питания в почве соответствует условиям, при которых при соблюдении определённых агротехнических норм можно получить среднестатистический урожай зерновых культур в данном регионе.

Высокое содержание элемента соответствует условиям, при которых возможно возделывание высокотребовательных пропашных культур: картофеля, кукурузы, сахарной свеклы и т.д.

Очень высокое содержание элемента отвечает условиям, которые складываются на почвах овощных севооборотов, на садовых участках и питомниках.

Необменные (экстенсивно-обменные и кислоторастворимые) формы калия

Для определения необменного калия существуют две группы методов, различающихся по механизму воздействия реактивов на почву:

- извлечение экстенсивно-обменного калия на основе образования комплексной соли с тетрафенилборатом натрия (метод Магницкого и Малкова),
- извлечение необменного калия в результате растворения и гидролиза кислотами калийсодержащих минералов почвы (методы Пчелкина и Гедройца).

В первом случае идет извлечение более усвояемых форм необменного калия без разрушения минералов. Во втором случае разрушается не только почвенный поглощающий комплекс, но и ряд первичных минералов (слюды, полевые шпаты и др.).

Метод Гедройца

Ход анализа:

5 г воздушно-сухой почвы помещают в колбу объемом 200 – 2 50 $см^3$ и приливают 50 $см^3$ 2,0 н. раствора соляной кислоты. Закрывают колбу пробкой с обратным холодильником, ставят на электроплитку и

кипятят в течение 30 мин (при массовом анализе, когда трудно поддерживать равномерное кипение раствора, колбы ставят в термостат и выдерживают 1 час при температуре 98 ± 1°С). Горячий раствор фильтруют в сухие мерные колбы на 50 $см^3$ и после охлаждения доводят объем до метки 2 н. раствором соляной кислоты.

Определение содержания калия в вытяжке провести на пламенном фотометре (см. с. 190 – 191).

Одновременно в этой же почве провести *определение обменного калия*. По разнице между величиной содержания калия, переходящего в вытяжку 2,0 н. HCl, и содержанием обменного калия рассчитать величину необменного калия почвенных коллоидов и фиксированного калия удобрений.

Результаты определения выражаются в миллиграммах на 100 г почвы.

Расчеты см. на ст. 190 – 191.

Шкалу образцовых растворов калия готовят на 0,4 н. HCl.

Реактив

2,0 н раствор соляной кислоты: 164 $см^3$ концентрированной соляной кислоты помещают в мерную колбу на 1 $дм^3$ и доводят дистиллированной водой до метки. Закрывают пробкой и тщательно перемешивают.

Метод Пчелкина

Метод основан на положении о разной растворимости первичных калийсодержащих минералов в кислотах: легче растворяются слюды (биотит, мусковит), труднее – гидрослюды, нефелин и труднорастворимые полевые шпаты. В качестве показателя степени подвижности почвенного калия автор предложил разницу между количеством калия, переходящим в 2,0 н. вытяжку HCl, и величиной обменного калия, определенной либо в вытяжке 0,2 н. HCl, либо в вытяжке 1,0 н. уксуснокислого аммония. Чем больше разница между этими величинами, тем больше возможность мобилизации почвенного калия.

Ход анализа

В колбу емкостью 200 $см^3$ помещают 2 г воздушно-сухой почвы, пропущенной через сито с диаметром отверстий 1 мм. Приливают 50 $см^3$ 2,0 н. раствора соляной кислоты и взбалтывают на ротаторе 1 ч. Колбы с суспензией закрывают стеклянными пробками-холодильниками или маленькими воронками и ставят на 48 ч в термостат при температуре 24°С. После термостатирования раствор фильтруют.

25 $см^3$ фильтрата переносят в мерную колбу на 100 $см^3$, доводят водой до метки, хорошо перемешивают и определяют содержание калия в растворе на пламенном фотометре.

Шкала образцовых растворов при построении калибровочного графика готовится на 0,5 н. растворе HCl.

Одновременно проводят *определение обменного калия* в той же почве. По разнице между содержанием калия, извлекаемого 2,0 н. HCl, и содержанием обменного калия рассчитывают величину необменного калия.

Реактивы

1. 2,0 н. раствор соляной кислоты.
2. 0,5 н. раствор соляной кислоты.

Расчеты см. на с. 190 – 191.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СЕРЫ В ПОЧВАХ

Сера как микроэлемент в питании растений и типоморфный элемент для многих почвообразовательных процессов из-за многообразия форм связей и сложности их определения остается одним из наименее изученных элементов в агрохимии.

Валовое содержание серы в почве составляет 0,05 – 0,25%. Меньше всего серы в легких почвах в зоне избыточного увлажнения. Средне- и тяжелосуглинистые почвы, а также особенно торфяные, как правило, в этих условиях имеют более высокое содержание серы. Почвы сухих районов нашей страны не только хорошо обеспечены серой, но даже зачастую подвержены сульфатному засолению.

Сера – элемент с резко выраженными металлоидными свойствами и элемент-анионообразователь. В почве и растениях сера в серосодержащих соединениях проявляет валентность от -2 до +6. В водных растворах она существует только в виде анионов, довольно легко способна менять степень окисления, что широко используется при ее определении. В биологических объектах сера может быть в виде элементарной серы, сероводорода, сульфидов, сульфатов, сульфитов, тиосульфатов и др.

Для определения форм серы используются гравиметрические, титриметрические, фотоколориметрические, электрохимические методы, методы газово-жидкостной хроматографии, спектроскопические, радиометрические и радиоактивационные методы.

Из-за множественности форм связей серы в биологических и природных объектах все методы определения общего содержания требуют перевода к единой форме окисленности, а учет отдельных форм – предварительного их отделения. Методы отделения зависят от форм связи и состава образца. Наиболее часто применяют метод дистилляции ее в виде сероводорода или сернистого ангидрида в токе инертного газа и фиксации этих соединений ацетатом цинка. Сульфидную серу также отделяют осаждением ее ацетатом цинка. Сульфатную серу определяют различными косвенными методами или восстанавливают сульфат до сероводорода.

Для характеристики обеспеченности почв серой определяют ее валовое содержание, а также содержание органической и минеральной серы.

♦ *Подготовка растворов и вытяжек для определения серы в почве*

Для определения валового содержания серы в почве Ю.И. Добрицкая (1973) предлагает метод *разложения HF кислотой в присутствии азотной кислоты или разложение HCl.* Однако в этом методе возможны значительные потери органической серы на стадии прокаливания почвы при 500°С. Р.Х. Айдинян (1968) предложил метод окисления серосодержащего вещества кислородом, выделяющимся при нагревании с бертолетовой солью: $2\ KClO_3 = 2\ KCl + 3\ O_2$

Окисление серы при этом идет до сульфатной формы.

Ход анализа. 1 – 1,5 г почвы, содержащей более 4% гумуса, 2 – 3 г почвы слабо гумусированных горизонтов (или при анализе растений 0,3 г растительного материала) смешивают с 5 – 8 г предварительно очищенного промывкой 1%-ной HCl и прокаленного кварцевого песка, помещают в пробирку или колбу Кьельдаля. Добавляют 2 г $KClO_3$, тщательно перемешивают, закрывают пробкой с сифоном, конец которого опущен в пробирку-приемник, заполненную наполовину дистиллированной водой с добавлением 1 – 2 капель H_2O_2.

Нагревают над горелкой, не допуская очень бурной реакции до тех пор, пока не прекратятся вспышки, а в пробирке-приемнике – выделение пузырьков. В остывшую пробирку прибавляют 2 – 3 капли концентрированной HCl.

Содержимое обеих пробирок объединяют и фильтруют, перенося горячей водой весь твердый остаток на фильтр. Остаток на фильтре отмывают 0,1 н. раствором KCl, доводя объем фильтрата до 150 – 200 $см^3$.

При неполном сжигании (что видно по отдельным несгоревшим частицам) содержимое обеих пробирок переносят в фарфоровую чашку, прибавляют 0,2 г $KClO_3$ и несколько капель HCl или 2 – 3 $см^3$ 30%-й H_2O_2 и выпаривают на водяной бане.

Обработку повторяют 2 – 3 раза, далее фильтруют так же, как описано выше. Измеряют конечный объем фильтрата.

♦ Разложение почвы для определения валовой серы проводят *методом кислотной варки смесью $HClO_4$ и HNO_3 в соотношении 1:3.*

Ход анализа

Навеску 1 – 3 г тонко растертой почвы заливают 15 $см^3$ смеси кислот или 15 $см^3$ HNO_3, перемешивают и спустя 8 – 10 ч нагревают до полного разложения азотной кислоты и просветления растворов; если раствор окрашен, в охлажденные колбы приливают по 2 $см^3$ 30%-й H_2O_2 и вновь нагревают. После охлаждения, добавляя малыми порциями воду,

содержимое переносят на фильтр и отмывают фильтры горячей водой. Измеряют конечный объем фильтрата.

♦ Для окисления соединений серы при анализе содержания минеральной серы в почвенных вытяжках, лизиметрических и грунтовых водах *применяют бром в щелочной среде.*

Ход анализа

В коническую колбу на 300 – 500 $см^3$ набирают 200 $см^3$ анализируемого раствора, прибавляют 1 – 2 $см^3$ 5%-го раствора NaOH, вводят бромную воду до неисчезающей желтоватой окраски и приливают 5 $см^3$ хлороформа или четыреххлористого углерода, закрывают горло воронкой и перемешивают. Спустя 20 – 30 мин прибавляют 10 $см^3$ концентрированной HNO_3 и нагревают 30 мин до полного удаления брома. В случае образования осадка гидроокиси железа раствор фильтруют и осадок тщательно отмывают. Горячий раствор нейтрализуют соляной кислотой, после этого подкисляют 1 $см^3$ этой же кислоты и измеряют конечный объем.

♦ *Окисление органического вещества* в почве можно выполнить *спеканием* в течение 20 – 30 мин *со смесью карбоната натрия и окиси магния* в соотношении 1: 2 или со смесью карбоната натрия и перекиси натрия (Na_2O_2) в соотношении 1: 3.

Ход анализа

Навеску почвы 1 - 3 г в тиглях тщательно перемешивают с 1 – 3 г смеси для окисления, помещают в холодный муфель и постепенно поднимают температуру, пока не образуется спекшаяся масса или плав, и выдерживают при ней 20 – 30 мин. После охлаждения плав до полного растворения кипятят с водой на плитке, фильтруют, тщательно отмывают фильтр водой. Фильтрат нейтрализуют соляной кислотой, добавляя 1 $см^3$ этой кислоты и измеряя конечный объем.

♦ Для *раздельного определения минеральной и органической серы* Р.Х. Айдиняном (1968) предложена следующая схема определения.

Ход анализа

Для удаления минеральной серы 3 – 5 г почвы помещают в стаканчик, доливают 0,2 н. HCl, перемешивают и после отстаивания фильтруют декантацией через воронку со взвешенным фильтром. Обработку кислотой проводят несколько раз до исчезновения реакции на SO_4^{2-}. Остаток почвы вместе с фильтратом сушат при 45 – 50°С, взвешивают и после тщательного растирания берут 1 – 1,5 г для разложения одним из описанных выше способов.

Определение сульфатной серы весовым методом

Метод основан на осаждении сульфат-ионов ионами бария. С сульфатом бария больше других соосаждаются анионы азотной кислоты и ионы Fe^{3+}. Ионы Fe^{3+} соосаждаются в меньшей мере, поэтому при малом

содержании железа можно ограничиться восстановлением его в двухвалентное гидроксиламином. Осаждение $BaSO_4$ проводят в солянокислой среде, так как соляная кислота способствует образованию крупнокристаллического осадка, не проходящего через фильтр, и препятствует образованию труднорастворимых солей $BaCO_3$ и $BaHPO_4$. Определению мешают высокие концентрации ионов кальция, которые связывают анионы SO_4^{2-}. Поэтому в карбонатных почвах перед определением серы необходимо отделить ионы кальция.

Ход анализа

В зависимости от содержания серы в химический стакан берут аликвоту раствора или вытяжки, доводят объем до 100 - 150 $см^3$. В засоленных сульфатами почвах соосаждение Fe^{3+} с сульфатом бария может оказать существенное влияние на результаты, поэтому из раствора предварительно удаляют полуторные окислы аммиачным способом.

Фильтрат подкисляют 10%-м раствором HCl по метилроту до явно кислой реакции, после чего добавляют еще 1 $см^3$ этой же кислоты и нагревают до кипения. В горячий раствор при постоянном перемешивании приливают по каплям 5 или 10 $см^3$ (в зависимости от содержания серы) горячий 10%-й раствор $BaCl_2$. Необходимо избегать избытка $BaCl_2$, так как при этом образуются мелкие кристаллы. Раствор с осадком оставляют в теплом месте не менее чем на 4 ч; если осадок едва заметен, время отстаивания увеличивается до 12 ч.

Осадок фильтруют через плотный беззольный фильтр (синяя лента), промывают горячей водой, подкисленной HCl, до отсутствия реакции на барий при прибавлении к пробе по капле 10%-ной H_2SO_4. Подсушенные фильтры озоляют в предварительно взвешенных тиглях при температуре 450 – 500°С до постоянного веса. Температуру в муфеле поднимают постепенно, чтобы не произошло восстановления углем части осадка до сульфида.

Содержание серы (в%) рассчитывают по формуле

$$S = \frac{a \cdot 0{,}1373 \cdot V_0 \cdot 100}{H \cdot V_1},$$

где a – масса осадка, г; $0{,}1373$ – коэффициент пересчета массы $BaSO_4$ на массу серы, при необходимости расчета содержания SO_4^{2-} – коэффициент $0{,}4115$; V_0 – объем исходной вытяжки, $см^3$; V_1 – объем вытяжки, взятый на определение, $см^3$; H – навеска, г; 100 – коэффициент пересчета на 100 г почвы, %.

Объемный трилонометрический метод определения сульфатов

Метод основан на учете избытка ионов бария, введенных в раствор для осаждения сульфат-ионов, который оттитровывают трилоном Б в присутствии металла-индикатора хромогена черного Т. Титрование проводят в щелочной среде pH 10 в присутствии ионов магния, так как барий

образует с хромогеном довольно непрочный комплекс. Эквивалентная точка перехода окраски раствора, содержащего ионы бария и магния, наблюдается тогда, когда трилон Б извлечет из комплекса хромогена с магнием весь магний. Метод применим только в тех случаях, когда качественная проба дает заметный осадок $BaSO_4$. При отсутствии осадка выбирают другой метод или концентрируют пробу на анионитах.

Подготовка ионообменных колонок с катионитом в H^+-форме. Необходимый объем (из расчета 15 - 20 г на колонку) катионита КУ-2 или КУ-2,8 заливают 5 – 10%-м раствором «х.ч.» HCl и после тщательного перемешивания оставляют на 8 – 10 ч. Раствор через марлю сливают, а катионит заливают новой порцией такой же кислоты и после тщательного перемешивания сливают через марлю. Затем катионит отмывают бидистиллированной водой до отсутствия реакции на хлор с $AgNO_3$. Полученным катионитом заполняют колонки, состоящие из трубки объемом 25 – 40 $см^3$ с расширением вверху и крана на суженной части внизу. Перед загрузкой катионита в суженную часть колонки над краном закладывается стекловата или асбест для тиглей Куча.

После каждого определения катионит в колонке заменяют или регенерируют пропусканием 150 – 200 $см^3$ 5%-го раствора HCl, а затем отмывают бидистиллированной водой до pH 5 или отсутствия реакции на хлор.

Ход анализа

25 – 50 $см^3$ фильтрата после разложения почвы или 50 – 75 $см^3$ фильтрата почвенной вытяжки помещают в мерную колбу на 100 $см^3$, нейтрализуют 10%-м аммиаком до выпадения гидроокисей металлов, а затем прибавляют по каплям 10%-й раствор HCl до их растворения (pH около 3,0).

Объем раствора доводят до метки, перемешивают и для удаления мешающих катионов Ca, Mg, Mn, Al, Fe и др. пропускают через колонку с катионитом в H^+-форме, отбрасывая первые 10 – 20 $см^3$.

Аликвоту фильтрата 50 – 7 5 $см^3$ помещают в коническую колбу, добавляют воду примерно до объема 100 $см^3$. Так как после катионирования раствор имеет сильнокислую реакцию, то 10%-м аммиаком по внешнему индикатору (универсальная индикаторная бумага или конго) доводят pH до 2,5 – 3,0. Прибавляют точно 10 $см^3$ 0,02 н. раствора $BaCl_2$, кипятят в течение 5 мин и оставляют на 2 ч в теплом месте.

После охлаждения прибавляют 20 $см^3$ буферного раствора. с pH 10, перемешивают, прибавляют на кончике пера хромогена черного Т и 3 капли спиртового раствора кислотного хрома темно-синего и титруют 0,02 н. трилоном Б до четкого перехода окраски из розовой в чисто-синюю. Параллельно титруют 3 пробы по 10 $см^3$ 0,02 н. раствора $BaCl_2$ и находят среднюю величину.

Из объема трилона Б, пошедшего на титрование холостого опыта, вычитают количество, пошедшее на титрование пробы. Полученная разность соответствует количеству связанного сульфата. 1 $см^3$ 0,02 н. раствора $BaCl_2$ соответствует 0,96066 $см^3$ SO_4^{2-} (в мг/100 г почвы):

$$SO_4^{2-} = \frac{a \cdot K \cdot 0{,}96066 \cdot V_0 \cdot 100}{H \cdot V_1},$$

где a – объем 0,02 н. раствора трилона Б, соответствующего количеству связанного сульфата, $см^3$; K – поправка к титру 0,02 н. трилона Б; *0,96066* – количество SO_4^{2-}, эквивалентное 1 $см^3$ 0,02 н. раствора $BaCl_2$, мг; V_0 – исходный объем вытяжки, $см^3$; V_1 – объем вытяжки, взятый на определение; H – навеска, г; *100* – коэффициент для пересчета на 100 г почвы.

Определение сульфат-ионов объемным методом по Айдиняну

Метод основан на титровании сульфат-ионов раствором $BaCl_2$ для связывания их в нерастворимую соль $BaSO_4$. Конец титрования устанавливается по голубому окрашиванию, устанавливающемуся при избытке ионов бария в среде 50%-го водно-ацетонового или водно-спиртового раствора при pH 1,7 – 2,0 в присутствии нитхромазо.

Ход анализа.

20 – 100 $см^3$ исследуемой вытяжки после очистки на катионитах в Н-форме упаривают до 20 $см^3$, приливают равный объем ацетона или спирта, добавляют 1 каплю 0,1%-ного водного раствора нитхромазо и титруют 0,02 н. $BaCl_2$ при тщательном перемешивании после каждой капли. Конец титрования отмечается четким переходом фиолетовой окраски в голубую, не исчезающую в течение 1 - 2 мин.

Содержание SO_4^{2-} в почве рассчитывают по формуле, приведенной при расчете в объемном трилонометрическом методе определения сульфатов (с. 198).

Фотометрические методы определения серы

Наиболее старые фотометрические методы определения сульфатов, интерес к которым из-за простоты сохраняется и сейчас, являются нефелометрическими или турбидиметрическими, основанными на измерении степени помутнения раствора при наличии малых концентраций сульфатов при взаимодействии с барием.

Сульфат-ион не образует окрашенных соединений ни с одним реагентом, поэтому все фотометрические методы основаны на реакциях разрушения окрашенных комплексов с барием, который с сульфат-ионом образует нерастворимую соль, и определяют избыточное количество введенного реагента. Такими наиболее употребительными реагентами являются ортаниловый Б и нитхромазо, который выпускают в виде кислоты и двукальциевой соли. Лучше применять кислоту.

Для определения серы в воде, почвенных вытяжках и биологических объектах широкое распространение получили фотометрические методы, основанные на разложении хлоранилата бария, при реакции сульфатов с которым освобождается эквивалентное количество окрашенной хлораниловой кислоты. При взаимодействии между хроматом бария

и сульфат-ионами измеряется интенсивность окраски высвобождающихся окрашенных соединений хромата, бихромата или применяют любой другой фотометрический метод определения хромата.

Определение сульфатной серы с нитхромазо

При разрушении сульфат-ионами комплекса бария с нитхромазо (2,7 -би-(4-нитро-2-сульфофенил)-азо-1,8-диоксинафталин- 3,6-дисульфокислота) в слабокислой среде окраска раствора изменяется от голубого до фиолетового цвета. Реакция выпадения сульфата бария идет замедленно в течение 6 ч на 98% за первые 1,5–2 ч. Реакцию проводят в 50–70%-м водно-ацетоновом или водно-спиртовом растворе. Соотношение ионов бария и нитхромазо должно быть 1:1. Определению мешают все катионы Ni, Cu, Sr, Ca и других металлов, взаимодействующих с нитхромазо, поэтому лучше использовать вытяжки и растворы, пропущенные через катионит в H^+-форме. Анионы фосфата и арсената мешают определению в больших концентрациях. В целом метод по избирательности и чувствительности по сравнению с другими методами имеет ряд преимуществ.

Ход анализа

Аликвоту исследуемого раствора, пропущенного через катионит в H^+-форме и содержащего 1,0 – 16 мкг сульфат-иона, помещают в колбу на 50 $см^3$. При меньшем объеме добавляют воду до 20 $см^3$, прибавляют 0,1 н. HCl до pH 2, и 20 $см^3$ (или чуть меньше) ацетона или этилового спирта. Перемешивают и добавляют 4 $см^3$ раствора комплекса бария с нитхромазо, довести до метки ацетоном или спиртом, перемешивают и оставляют на 2 ч.

Оптическую плотность измеряют при длине волны 644 нм относительно холостого опыта со всеми применяемыми реактивами с дистиллированной водой в кювете с толщиной просматриваемого слоя 1 или 2 см.

По значению оптической плотности находят содержание серы, пользуясь калибровочными графиками.

Определение сульфатной серы с хлоранилатом бария

Хлоранилат бария – бариевая соль 2,5-дихлор-3,6-диокси-*п*-бензохинона, взаимодействуя с сульфат-ионами, высвобождает эквивалентное количество окрашенной хлораниловой кислоты. Мешающее влияние Ca, Fe, Al, Pb, Zn может быть исключено предварительным пропусканием вытяжек и растворов через катионит в H^+-форме. Фториды и фосфаты, которые связывают барий, завышают результаты, однако при pH 2 их влияние уменьшается. Реакцию можно проводить в водных растворах или в 80%-м растворе изопропилового спирта.

Измерение оптической плотности можно проводить при 330 и 530 нм. При измерении оптической плотности при 330 нм чувствительность метода возрастает в 25 раз, но при этом обязательно применение

буферного раствора с pH 5,5 для водных и pH 6,5–7,0 в 80%-м изопропиловом спирте. При измерениях при 530 нм в водных растворах необходимо поддерживать pH 2, а в 80%-м изобутиловом спирте – pH 3–4. При λ 310 нм измерение можно проводить при любом значении pH, так как эта длина волны является изобарической точкой перехода молекулярной формы кислоты в ионную.

Ход анализа

Аликвоту исследуемого раствора, содержащую от 0,1 до 500 мкг серы pH 2, предварительно пропущенного через катионит в H^+-форме, помещают в 25 $см^3$ колбочку, в которую внесено 50 мг хлоранилата бария, доводят объем до метки, встряхивают в течение 30 мин и оставляют до полного оседания осадка. При необходимости центрифугируют. Декантацией слитый раствор или супернотант фотометрируют при длине волны 530 нм.

При проведении реакции в 80%-м изопропиловом спирте аликвоту не более 5 $см^3$ с предварительно установленной pH 3 – 4 (при меньшем объеме доводят водой до 5 $см^3$) помещают в мерную колбу на 25 $см^3$, содержащую 25 мг хлоранилата бария, приливают 20 $см^3$ изопропилового спирта, смесь 30 мин встряхивают и после центрифугирования супернотант фотометрируют против холостого опыта со всеми реактивами при длине волны 530 нм.

Содержание серы определяют по калибровочному графику, построенному в пределах от 0,5 до 500 мкг серы по определенному варианту.

Определение сульфатной серы с хроматом бария

Метод основан на изменении интенсивности окраски хромата, высвобождающегося при взаимодействии хромата бария с сульфат-ионами, содержание которого эквивалентно содержанию сульфата.

Ход анализа

В мерную колбу на 25 $см^3$ помещают до 15 $см^3$ исследуемого раствора, содержащего до 5 мг серы, прибавляют 5 $см^3$ 1% -го раствора хромата бария, перемешивают и оставляют на водяной бане на 30 мин. Затем раствор нейтрализуют 5%-м раствором щелочи, не содержащей карбонатов, по внешнему индикатору до нейтральной pH, доводят до метки, перемешивают и центрифугируют при 2000 об./мин. Супернотант фотометрируют относительно воды при 373 нм.

Калибровочную кривую строят на основе растворов, приготовленных с проведением через все стадии описанного выше анализа.

Турбидиметрический метод определения серы

При малых концентрациях сульфат-ионов после добавления хлорида бария образующийся сульфат бария не выпадает в осадок, а остается в виде тонкой взвеси. Измерение степени помутнения раствора и

лежит в основе определения сульфатов (или других соединений после их окисления до сульфатов). Добавление 20 – 30%-го этилового спирта понижает растворимость сульфатов в воде и увеличивает ее дисперсность. Рекомендовано много методов, в которых применяются защитные коллоиды (гликоль, глицерин, крахмал, поливиниловый спирт, Твин-80).

Взвесь $BaSO_4$ получают в солянокислой среде. Помутнение сначала усиливается, но через 10–15 мин стабилизируется. При длительном стоянии возможно выпадение взвеси в осадок, поэтому образцы и стандарты фотометрируют через одно и то же время. Метод очень простой и быстрый, но недостаточно точный и чувствительный.

Ход анализа

В мерную колбочку на 50 $см^3$ берут аликвоту, содержащую более 120 мкг серы, подкисляют 2 $см^3$ 10%-й HCl, добавляют 10 $см^3$ этилового спирта, 1 $см^3$ глицерина, доводят объем примерно до 40 $см^3$ и быстро приливают 5 $см^3$ 2%-го раствора $BaCl_2$, доводят до метки, перемешивают и через 15 мин фотометрируют на нефелометре.

Калибровочную кривую строят от 100 до1000 мкг.

Содержание серы по всем приведенным фотоколориметрическим методам определяют по формуле $S = \frac{a \cdot V_0 \cdot 1000}{H \cdot V_1 \cdot 1000} = \frac{a \cdot V_0}{H \cdot V_1}$

где S – содержание серы, мг/кг; a – содержание серы, найденное по графику, мкг; V_0 – исходный объем вытяжки, $см^3$; V_1 – объем вытяжки, взятый на определение, $см^3$; H – навеска, г.

Реактивы

1. Раствор $BaCl_2$ 0,02 н.: 2,0807 г $BaCl_2$ или 2,4430 $BaCl_2 \cdot 2H_2O_2$ растворяют в 1 $дм^3$ воды. Титр устанавливают по 0,02 н. раствору H_2SO_4, приготовленному из фиксанала.

2. Хромоген черный Т: 1 г реактива растереть со 100 г сухой соли NaOH до пудрообразного состояния.

3. Кислотный хром темно-синий (спиртовой раствор).

4. Раствор серебра азотнокислого (1%-й). Хранить в склянке из темного стекла.

5. Нитхромазо (0,1%-й водный раствор).

6. Спирт этиловый (96% -й гидролизный).

7. Ацетон «х.ч.».

8. Хлорид бария (2%-й водный раствор).

9. Глицерин «х.ч.».

10. Бром (насыщенный водный раствор брома).

11. Стандартный раствор серы (в виде сульфатов): 5,4370 г прокаленного при 400 – 450°С K_2SO_4 растворяют в воде и доводят объем до 1 $дм^3$. Из основного раствора готовят рабочие стандартные растворы с содержанием 10 и 1 мкг/$см^3$ серы.

12. Смесь для окисления 1 (карбонат натрия и окись магния): перемешать и растереть в ступке 1 часть Na_2CO_3 и 2 части MgO.

13. Смесь для окисления 2 (карбонат натрия и перекись натрия): тщательно перемешать и растереть 1 часть Na_2CO_3 и 3 части Na_2O_2.

14. HCl, 10%-й водный раствор, 0,1 н. раствор.

15. Аммиак, 10%-й водный раствор.

16. Хлоранилат бария. Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

17. Буферный раствор pH 2, 3, 4: 5,8 $см^3$ уксусной кислоты разбавляют водой до 500 $см^3$, нейтрализуют 10%-м раствором NH_4OH до pH 2, 3 или 4 в зависимости от выбранного варианта определения.

18. Аммонийный буфер (pH 10) с $MgCl_2$. Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

19. Раствор комплекса бария с нитхромазо. Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

Определение подвижной серы (в модификации ЦИНАО, ГОСТ 26490)

Данный метод определения подвижной серы используют при проведении почвенного, агрохимического, мелиоративного обследования угодий, контроля за состоянием почв, а также при других изыскательских и исследовательских работах.

Сущность метода заключается в извлечении подвижной серы из почвы раствором хлористого калия, осаждении сульфатов хлористым барием и последующем турбидиметрическом определении их в виде сульфата бария по оптической плотности взвеси. В качестве стабилизатора взвести используют растворимый крахмал.

Суммарная относительная погрешность составляет: 25% при массовой доле серы в почве до 2,5 $млн^{-1}$; 10% – от 2,5 до5 $млн^{-1}$; 7,5% – более 5 $млн^{-1}$.

Для анализа используют фильтраты вытяжек, приготовленных по ГОСТ 26483 (см. на с. 67).

Ход анализа

В пробирки отбирают по 15 $см^3$ анализируемых фильтратов и растворов сравнения. К пробам приливают по 15 $см^3$ осаждающего раствора и тщательно перемешивают.

Фотометрирование взвеси проводят не ранее чем через 10 мин после прибавления осаждающего раствора в кювете с толщиной просвечиваемого слоя 5 см относительно раствора сравнения № 1, при длине волны 520 мм или используя светофильтр с максимумом пропускания в области 500 – 540 нм.

Перед помещением в кювету фотоэлектроколориметра взвесь необходимо перемешать. Взвесь оптически устойчива в течение 7 ч.

Допускается пропорциональной изменение объемов проб анализируемых вытяжек, растворов сравнения и осаждающего раствора при погрешности дозирования не более 1%.

Кюветы фотоэлектроколориметра и пробирки после работы помещают в моющий раствор на 1 ч.

Обработка результатов

По результатам фотометрирования растворов сравнения строят градуировочный график. По оси абсцисс откладывают концентрации серы в растворах сравнения в пересчете на массовую долю в почве (млн$^{-1}$), а по оси ординат – соответствующие им показания фотоэлектроколориметра.

Массовую долю серы в анализируемой почве определяют непосредственно по градуировочному графику и вычитают результат холостого опыта.

Если результат анализа выходит за пределы градуировочного графика, определение повторяют, предварительно разбавив фильтрат раствором хлористого калия 1 моль/дм^3. Результат, найденный по графику, увеличивают во столько раз, во сколько был разбавлен фильтрат.

При проведении массовых анализов вместо построения градуировочного графика допускается градуирование шкалы прибора по растворам сравнения в день проведения анализа.

За результат анализа принимают значение единичного определения серы.

Результат анализа выражают в миллионных долях с округлением до первого десятичного знака.

Допускаемые относительные отклонения от среднего арифметического результатов повторных анализов при выборочном статистическом контроле при доверительной вероятности P = 0,95 составляют 35% при массовой доле серы в почве до 2,5 млн$^{-1}$; 15% – от 2,5 до5 млн$^{-1}$; 10% – более 5 млн$^{-1}$.

Реактивы

1. Осаждающий раствор: 20 г двухводного хлористого бария (ГОСТ 4108) взвешивают с погрешностью не более 0,1 г, помещают в стакан из термостойкого стекла вместимостью 1000 см^3 и приливают примерно 800 см^3 дистиллированной воды и 60 см^3 раствора соляной кислоты концентрации 1 моль/дм^3. Стакан помещают на кипящую водяную баню. В горячий раствор добавляют 5 г растворимого крахмала, взвешенного с погрешностью не более 0,1 г и предварительно разведенного небольшим количеством дистиллированной воды. Смесь нагревают на водяной бане при непрерывном помешивании до получения прозрачного раствора. Затем раствор охлаждают, переносят в мерную колбу вместимостью 1000 см^3, доводят объем до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают.

Раствор хранят в склянке с притертой пробкой не более недели. Перед использованием раствор фильтруют через бумажный фильтр.

2. Раствор натрия сернокислого с массовой концентрацией серы 0,1 моль/дм^3. Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

3. Растворы сравнения: в мерные колбы вместимостью 100 см^3 помещают указанные в таблице объемы раствора с массовой концентрацией серы 0,1 моль/дм^3 (п. 2). Объемы растворов доводят до меток раствором хлористого калия концентрации 1 моль/дм^3 и тщательно перемешивают.

Характеристика раствора	Номер раствора сравнения							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Объем раствора с массовой концентрацией серы 0,1 моль/дм^3, см^3	0	2	4	8	12	16	20	24
Концентрация серы:								
в растворах сравнения, мг/дм^3	0	0,8	1,6	3,2	4,8	6,4	8,0	9,6
в пересчете на массовую долю в почве, млн$^{-1}$	0	2	4	8	12	16	20	24

Растворы хранят в склянках с притертыми пробками не более 1 мес.
Растворы сравнения используют для градуировки фотоэлектроколориметра в день проведения анализа.

4. Моющий раствор: 5 г трилона Б (ГОСТ 10652, «ч.д.а.») взвешенного с погрешностью не более 0,1 г, растворяют в 1000 см^3 раствора гидроокиси натрия массовой концентрации (5 г/дм^3).

5. Кислота соляная (ГОСТ 3118, «х.ч.» или «ч.д.а.»), раствор концентрации $c(HCl)$ = 1 моль/дм^3 (1 н.).

6. Калий хлористый (ГОСТ 4234, «х.ч.» или «ч.д.а.»), раствор концентрации $c(KCl)$ = 1 моль/дм^3 (1 н.).

7. Натрия гидроокись (ГОСТ 4328, «х.ч.» или «ч.д.а.»), раствор с массовой долей 0,5% (5 г/дм^3).

8. Крахмал растворимый.

9. Вода дистиллированная (ГОСТ 6709).

Аппаратура и материалы

1. Фотоэлектроколориметр.

2. Баня водяная.

3. Весы лабораторные 2-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 200 г и 4-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 500 г (ГОСТ 24104).

4. Дозаторы с погрешностью дозирования не более 1% или пипетки 2-го класса точности (ГОСТ 20292).

5. Посуда мерная лабораторная 2-го класса точности (ГОСТ 1770).

6. Пробирки стеклянные вместимостью 50 см^3 (ГОСТ 10515).

7. Бумага фильтровальная (ГОСТ 12026).

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КРЕМНИЯ В ПОЧВАХ

Весовой метод определения кремнекислоты

Ход анализа

Полученный плав после спекания 1 г почвы со смесью 2 г безводной соды и 0,1 г KNO_3 охлаждают, приливают 25 см^3 горячей дистиллированной воды и 10 см^3 концентрированной HCl и нагревают на водяной бане при аккуратном перемешивании спека стеклянной палочкой до полного его растворения, а далее выпаривают до состояния влажных солей.

К влажному остатку приливают 20 $см^3$ концентрированной HCl, ставят на кипящую водяную баню и через 10 мин при постоянном перемешивании приливают 5 $см^3$ 2%-го раствора желатины, продолжая (2 – 3 мин) быстро перемешивать раствор. Желатина как положительно заряженный коллоид в сильнокислой среде взаимно коагулирует отрицательно заряженные частицы кремневой кислоты.

Добавляют 5 $см^3$ мацерированной фильтровальной бумаги для ускорения фильтрации и 25 $см^3$ горячей воды и фильтруют декантацией через фильтр «белая лента» в колбу на 250 $см^3$. После этого осадок сливают на фильтр из промывалки струей горячей HCl (1%-й) и этой же кислотой промывают осадок на фильтре до отсутствия реакции на железо с 10%-м раствором роданида. Перед промывкой осадка чашку протирают кусочком фильтровальной бумаги, который смывают на фильтр с осадком. Подсушенный на воронке фильтр с осадком переносят во взвешенный тигель и прокаливают в муфеле до постоянного веса при 900 – 1000°C, так как осадок $SiO_2 \cdot n\ H_2O$ отдает воду полностью лишь при высокой температуре. Осадок должен быть чисто-белого цвета, всякие оттенки связаны с недостаточной отмывкой. Охлаждают в эксикаторе (осадок легко адсорбирует воду из воздуха), взвешивают.

Рассчитывают содержание кремния (в %) по формуле

$$SiO = \frac{a \cdot 100}{H},$$

где a – масса осадка, г; H – навеска почвы, г.

Фотометрические методы определения кремния

Фотометрическое определение кремния основано на реакции образования желтой кремнемолибденовой гетерополикислоты $H_4[Si(Mo_3O_{10})_4] \cdot H_2O$ или после ее восстановления в виде кремнемолибденовой сини. Методы, основанные на определении желтого комплекса менее чувствительны, чем методы, основанные на определении сини. Желтая кремнемолибденовая кислота существует в α- и β-формах, образование которых происходит соответственно при pH 2,3 – 3,9 и pH 1,5 – 2,0. При этом β-форма постепенно переходит в более устойчивую α-форму. Кроме этого на образование отдельных форм кремнемолибденовой кислоты оказывают влияние не только pH, но и температура и соотношение Si : Mo. Восстановление формы в зависимости от количества восстановителя сопровождается образованием продуктов двух типов, имеющих различные спектры поглощения. Поэтому при определении кремния необходимо придерживаться одинаковых условий как при построении калибровочного графика, так и при выполнении определений.

Определению кремния мешают P, Ge, As, V, которые образуют аналогичные гетерополикислоты, а также Zn, Sn, Ti и W, которые образуют с реагентом нерастворимые соединения. Мешающее влияние, главным образом фосфатов, устраняют добавлением тартратов, цитратов или оксалатов, которые вводят только после полного развития окраски кремнемолибденовой кислоты. Для полного развития окраски необходимо, чтобы кремневая кислота находилась в мономерном состоянии, которое возможно при pH 1 – 8 в разбавленных растворах с концентрацией не более 0,1 мг/дм^3 Si, тогда как в более концентрированных растворах при той же кислотности образуется поликремневая кислота. Поэтому необходимо использовать свежеприготовленные растворы или проводить деполимеризацию добавлением HF. При этом фтор связывает в прочные растворимые комплексы титан и другие металлы, мешающие определению. Фтор мешает определению, так как образует тетрафторид кремния. Влияние фтора устраняют прибавлением борной кислоты или солей алюминия.

Определение кремния в виде кремнемолибденовой гетерополикислоты

Ход анализа.

В колбу на 50 см^3 берут аликвоту раствора содового плава или подщелоченной почвенной вытяжки, содержащую 0,1 – 0,8 мг Si, подкисляют 2 н. H_2SO_4 до pH около 1,5, прибавляют 5 см^3 раствора молибдата аммония, разбавляют водой до 35 - 40 см^3, прибавляют 3 см^3 2 н. H_2SO_4 до установления pH 1,4 (± 0,1) и перемешивают. Спустя 10 – 15 мин. для устранения мешающего влияния фосфатов приливают 2 см^3 20%-го раствора тартрата, доводят до метки, перемешивают. Через 5 мин фотометрируют при длине волны 400 нм (голубой светофильтр).

Определение кремния в почвенных вытяжках в виде кремнемолибденовой сини

При pH 3,8 - 4,8 образуется α-кремнемолибденовая кислота, которую восстанавливают смесью Sn(IV), аскорбиновой и щавелевой кислот, не восстанавливая избытка реагента.

Ход анализа

Аликвоту исследуемого раствора 25 см^3 (при меньшем объеме развести водой), содержащую от 0,5 – 2,0 мг Si, нейтрализуют 10%-м аммиаком по фенолфталеину, добавляют 3 см^3 буферного раствора и 5 см^3 4,4%-го раствора молибдата аммония и, перемешав, оставляют на 15 мин. Затем приливают 2 см^3 20%-го тартрата, перемешивают, добавляют 5 см^3 раствора восстановителя, доводят до метки и фотометрируют через 20 мин при λ 740 нм.

Калибровочный график строят от 0,1 до 2 мг Si.

Реактивы

1. Раствор желатины (2%-й): 2 г желатины при слабом подогреве растворить в 100 $см^3$ воды. Готовить в день проведения анализа.

2. 10%-й раствор роданида (NH_4SCN или KSCN).

3. 1%-й раствор HCl: 22,6 $см^3$ концентрированной HCl разбавляют водой до 1 $дм^3$.

4. Мацерированная фильтровальная бумага. Способ изготовления см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

5. Буферный раствор: 40 г ацетата натрия и 116 $см^3$ уксусной кислоты разбавить дистиллированной водой до 1 $дм^3$.

6. Молибдат аммония (4,4%-й водный раствор).

7. Восстановительная смесь: 4 г безводного SnCl растворить в 40 $см^3$ воды, довести объем до 50 $см^3$. Этот раствор прилить к 200 $см^3$ 8,5%-го раствора щавелевой кислоты.

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ И СОСТАВА ГУМУСА В ПОЧВЕ

Содержание и состав органических соединений в почвах агроэкосистем оказывают огромное влияние практически на все свойства и функции этих почв. Особую роль при этом играют специфические почвенные органические соединения – вещества гумусовой природы. Влияние гумусовых веществ на плодородие почв чрезвычайно многообразно. Присутствие в почве достаточного количества гумусовых веществ способствует формированию прочной структуры почвы и обеспечивает таким образом благоприятный водно-воздушный режим. Гумусовые вещества придают почве буферность в отношении элементов питания растений, особенно азота. Высокий уровень микробиологической активности почв также поддерживается высоким уровнем содержания гумуса. Таким образом, гумус является важным показателем плодородия почвы. Гумусовые вещества играют огромную роль в предотвращении или снижении поступления в растения различных загрязняющих веществ (тяжелых металлов, остаточных количеств пестицидов и т.д.).

Следует иметь в виду, что важно не только общее содержание органических или гумусовых веществ, но и его состав. Преобладание в составе гумуса гуминовых кислот, особенно связанных с кальцием, наиболее благоприятно сказывается на плодородии почв. В частности, благоприятный состав микроорганизмов в почве достигается при высокой доле гуминовых кислот, особенно связанных с кальцием.

Гумусное состояние почв неизбежно претерпевает глубокие изменения при вовлечении почв в сельскохозяйственное использование. Это прежде всего связано с изменением соотношения скоростей гумусонакопления и минерализации, одновременно протекающих в почвах.

Поэтому при разработке и оценке систем земледелия крайне важно принимать во внимание учитывать ожидаемое изменение гумусного состояния почв и в процессе использования почв проводить наблюдения контроль за изменением гумусового состояния почв. Вообще, недопустимо применение систем земледелия, приводящих к разрушению гумуса почв и как следствие к утрате почвами плодородия, их деградации. Поддержанию благоприятного гумусного состояния почв и накоплению гумуса способствует внесение органических удобрений, увеличение доли многолетних трав в севооборотах и др.

При оценке гумусного состояния почв принято определять ряд показателей, из которых наиболее существенны для оценки почвенного плодородия: 1) общее содержание гумуса в почве и 2) соотношение различных типов органических соединений, входящих в состав гумуса, т.е. групповой и фракционный состав гумусовых веществ.

Определение общего содержания гумуса в почве

Наиболее часто при оценке гумусного состояния почвы определяют общее содержание в почве веществ гумусовой природы. Прямое гравиметрическое определение органических веществ почвы не применяется из-за множества возникающих при этом затруднений: сложности выделения органических веществ, прочно связанных с минеральной частью почвы, возможного изменения их состава в процессе экстракции, а также из-за трудоемкости анализа, что немаловажно для такого широко используемого определения. Поэтому для оценки содержания гумуса в почве прибегают к косвенным методам, основанным на разложении гумуса почвы до углекислого газа и воды. В ходе анализа определяют количество углерода, содержавшегося в органическом веществе, подвергшемся разложению. Таким образом, эти методы основаны на предположении о том, что состав органических веществ в почве относительно постоянен и по количеству углерода, входящего в состав гумуса, можно судить о содержании последнего. Несмотря на такое, казалось бы, смелое допущение, этот подход является единственным принятым в аналитической практике для определения содержания гумуса в почвах и, как правило, в применении к большинству используемых в сельском хозяйстве почв дает достаточно корректные оценки этого показателя.

Разложение органического вещества до углекислого газа и воды может быть осуществлено методами сухого или мокрого озоления.

Сухое озоление органического вещества. При использовании метода сухого озоления по Г.Г. Густавсону достигается практически полное разложение органических веществ, так как реакция протекает при температуре около 600°С. Количество выделившегося в результате разложения углекислого газа может быть определено гравиметрически,

волюмометрически или титриметрически. В классической модификации этот метод отличается большой трудоемкостью и длительностью проведения анализа. Однако поскольку метод отличается высокой точностью и воспроизводимостью, то именно его обычно используют в автоматических анализаторах для определения углерода. Так как в этих приборах температура, при которой происходит сжигание, может быть установлена точно, то исключается практически единственный недостаток этого метода – возможность разложения присутствующих в почве карбонатов с выделением углекислого газа при температуре более 700°С.

Мокрое озоление органического вещества. Как правило, в аналитической практике при определении углерода органических соединений используют метод Кнопа-Сабанина – мокрое озоление почвы раствором бихромата калия ($K_2Cr_2O_7$) в серной кислоте. О количестве углерода органических соединений, подвергшихся мокрому озолению, можно судить как непосредственно по количеству выделившегося углекислого газа, так и по количеству окислителя, пошедшего на сжигание органического вещества. Классический метод Кнопа-Сабанина предусматривает прямое гравиметрическое определение выделившегося при разложении органических веществ углекислого газа. Многие современные модификации предусматривают определение остаточного количества окислителя титриметрическими (метод Тюрина) или фотометрическими (метод Орлова-Гриндель) методами. Поскольку все предлагаемые ниже методы представляют собой модификации этого подхода, т.е. мокрого сжигания органического вещества с последующим определением избытка окислителя, рассмотрим вначале общие принципы, лежащие в его основе.

Принципы определения гумуса методом мокрого озоления

Отбор проб почвы и подготовка их к анализу. При агрохимическом исследовании почвы наибольший интерес представляет, как правило, определение содержания в почве специфических гумусовых соединений. Между тем в процессе мокрого озоления разложению до углекислого газа и воды могут повергаться все органические вещества, содержащиеся в пробе, в том числе негумифицированные растительные остатки и органические вещества негумусовой природы. Поэтому при подготовке почвы к анализу особое внимание следует обратить на возможно полное отсутствие в ней корешков и различных органических остатков растительного и животного происхождения. Тем не менее при определении общего содержания углерода органических соединений в почвах, используемых в земледелии, даже после тщательной подготовки проб следует иметь в виду, что получаемые результаты могут характеризовать количество углерода не только гумусовых веществ, но и не подвергшихся гумификации неспецифических органических соединений, поступивших в почву с навозом или различными компостами. Так как навеска почвы

при определении общего содержания углерода весьма невелика, ее однородность также имеет большое значение.

Из взятого в поле и доведенного до воздушно-сухого состояния образца берут среднюю пробу почвы массой около 50 г. Корни и видимые глазом органические остатки тщательно отбирают пинцетом. Раздавливают почвенные комки и вновь тщательно отбирают корешки, используя лупу. Почву растирают в агатовой или фарфоровой ступке и отбирают среднюю аналитическую пробу массой около 5 г, которую пропускают через сито с диаметром отверстий 1 мм, и вновь отбирают корешки. В процессе отбора корешков надо неоднократно перемешивать почву и вновь распределять ее тонким слоем.

Очищенную от органических остатков почву снова растирают в ступке и пропускают через сито с диаметром отверстий 0,25 мм. Трудно поддающуюся растиранию часть образца отбрасывать нельзя.

Особенности мокрого озоления органического вещества почв

Озоление (окисление) органических соединений почвы до углекислого газа и воды проводят 0,4 н. раствором $K_2Cr_2O_7$ в серной кислоте, разбавленной водой в соотношении 1:1. Этот реактив часто называют хромовой или окислительной смесью. Процесс окисления углерода гумуса можно условно представить уравнением

$$2K_2Cr_2O_7 + 8\,H_2SO_4 + 3C(\text{гумуса}) = 2Cr_2(SO_4)_3 + 2K_2SO_4 + 8H_2O + 3CO_2 \quad (1)$$

Полнота окисления органического вещества составляет около 85 – 95%, причем в оторфованных горизонтах она обычно ниже. Она также сильно зависит от температуры и времени протекания реакции. Воспроизводимость результатов обычно невелика, и поэтому определение следует проводить в не менее чем трехкратной повторности. В классической модификации, используемой в методе Тюрина, нагревание проводят на электрической плитке. В этом случае следует весьма тщательно контролировать идентичность условий сжигания для каждой пробы. Б.А. Никитин рекомендовал проводить сжигание в сушильном шкафу при температуре 150°С в течение 20 мин, что позволило несколько повысить воспроизводимость результатов и весьма упростило саму процедуру анализа. Хорошо воспроизводимые результаты дает также модификация метода, предложенная З.П. Антоновым и др. (1984).

Метод мокрого озоления достаточно быстр, удобен в использовании, не требует сложной аппаратуры и в большинстве почв дает вполне приемлемые результаты. Исключение могут составлять лишь карбонатные почвы и почвы с избыточным количеством извести. Карбонаты не подвергаются разложению хромовой смесью, но образующийся при взаимодействии карбоната кальция и серной кислоты гипс может обволакивать частицы почвы, препятствуя проникновению окислительного раствора и разложению органического вещества внутри частиц.

Особенности определения содержания углерода органических соединений по расходу бихромата калия

Во всех предлагаемых модификациях количество углерода органических соединений оценивается косвенно – по количеству восстановленного или оставшегося в избытке бихромата калия. Это значительно упрощает процедуру анализа, но при этом следует иметь в виду, что фактически определяется не количество углерода, а окисляемость органических веществ, содержащихся в пробе, и почвы в целом.

Величина окисляемости органических веществ количественно совпадает с содержанием углерода только в том случае, если соотношение водорода и кислорода в составе органических соединений равно 2. Если H:O > 2, то получаются завышенные результаты определения углерода, так как бихромат калия вступает во взаимодействие с «избыточным» водородом. Если соотношение H:O < 2, окисление углерода происходит отчасти за счет кислорода самих органических соединений, что занижает результаты. Некоторые неорганические восстановители, присутствующие в почве, также могут подвергаться окислению хромовой смесью. В частности, происходит количественное окисление присутствующих в почве хлорид-ионов с выделением свободного хлора

$$Cr_2O_7^{2-} + 6\,Cl^- + 14\,H^+ = 2\,Cr^{3+} + 3\,Cl_2 + 7\,H_2O \qquad (2)$$

Влияние хлорид-ионов на результаты определения углерода в засоленных или удобренных хлоридными солями почвах может быть учтено при параллельном определении их в отдельной навеске. Можно также перед озолением отмыть почву от хлоридсодержащих солей.

Взаимодействие закисного железа и марганца в низких степенях окисления с бихроматом, по-видимому, может оказывать заметное влияние только при анализе невысушенных образцов почвы, что, как правило, не практикуется при определении общего содержания углерода органических соединений в почвах.

Пересчет содержания углерода органических соединений на содержание гумуса. Результаты определения углерода органических соединений используются для оценки содержания гумуса в почве. Поскольку доля углерода в составе гумуса может сильно варьировать в разных почвах и, кроме того, определяемый в пробе углерод может входить не только в состав гумуса, но и в состав неспецифических органических соединений, то такая оценка является несколько условной. Однако так называемый пересчет углерода на гумус получил широкое распространение. Обычно для этого результаты определения углерода в почве умножают на коэффициент 1,724, предполагая, что в гумусе содержится в среднем 58% углерода.

Определение углерода органических соединений почвы по Тюрину

Принцип метода. Мокрое озоление органических соединений почвы хромовой смесью проводят в колбах на электрической плитке. О количестве углерода, содержавшегося в органических соединениях, судят по количеству оставшегося неизрасходованным бихромата калия, которое определяют титрованием солью Мора. Реакция с солью Мора, представляющей собой двойную соль сернокислого аммония и сернокислой закиси железа, идет по уравнению

$$6\,FeSO_4(NH_4)_2SO_4 + K_2Cr_2O_7 + 7\,H_2SO_4 = Cr_2(SO_4)_3 + \\ + 3Fe_2(SO_4)_3 + 6\,(NH_4)_2SO_4 + K_2SO_4 + 7\,H_2O \qquad (3)$$

Определение углерода органических соединений по Тюрину содержит несколько потенциальных источников ошибок. Во-первых, полнота окисления органического вещества на плитке сильно зависит как от времени сжигания, так и от интенсивности кипения. Во-вторых, определение содержания углерода по остаточному количеству бихромата калия требует приливания к навеске почвы точного количества хромовой смеси. Поэтому эта модификация требует от аналитика особой тщательности проведения всех операций.

Ход анализа

Из подготовленной пробы почвы на аналитических весах в тарированную пробирку берут навеску. Величина навески зависит от предполагаемого содержания в почве органического углерода, о котором можно судить по цвету почвы:

Цвет почвы	*Содержание гумуса,%*	*Примерная масса навески, г*
Черный	> 10	0,1
Темно-серый	10 – 5	0,2
Серый	5 – 1	0,3
Светло-серый	1,0 – 0 ,5	0,4
Белесый	< 0,5	0,5

Навеску переносят на дно сухой конической колбы на 100 $см^3$ с помощью резиновой трубки, надетой на дно пробирки. После этого пробирку взвешивают вторично. По разности массы пробирки с почвой и без нее рассчитывают величину навески с учетом четырех значащих цифр. В колбу медленно приливают из бюретки точно 10 $см^3$ 0,4 н. раствора двухромовокислого калия в серной кислоте. Количество добавленного бихромата учитывается при расчете содержания углерода, поэтому неточное отмеривание раствора бихромата приводит к ошибкам в определении. Содержимое осторожно перемешивают круговым движением, обращая внимание на то, чтобы вся почва была смочена раствором и частиц ее не было на стенках колбы. Колбу закрывают маленькой воронкой, которая служит обратным холодильником, ставят на горячую электроплитку или горелку с асбестовой сеткой и нагревают в течение 5 мин. с начала кипения жидкости. Нельзя допускать бурного кипения.

При сильном и продолжительном кипении увеличивается концентрация серной кислоты, что может привести к разложению бихромата, а отсюда к неверным конечным результатам анализа. Колбу снимают с плитки и дают ей охладиться. Воронку обмывают дистиллированной водой из промывалки над колбой, разбавляя раствор до объема 20 – 30 $см^3$. Жидкость в колбе должна быть буровато-коричневой. Если она ярко-зеленая, это означает, что в процессе озоления весь добавленный бихромат восстановился до ионов трехвалентного хрома, имеющих интенсивно-зеленый цвет, и, возможно, его не хватило на озоление углерода. В этом случае сжигание следует повторить, уменьшив при этом навеску почвы.

Титрование бихромат-ионов с дифениламином. Если в качестве индикатора при титровании используют дифениламин, раствор переносят через маленькую воронку в коническую колбу на 250 $см^3$, ополаскивая несколько раз дистиллированной водой до объема 100 – 150 $см^3$. Прибавляют 8 капель раствора индикатора дифениламина. Титруют 0,1 н. раствором соли Мора оставшийся в растворе бихромат калия до перехода окраски из грязно-фиолетовой в бутылочно-зеленую от одной капли восстановителя. Восстановленная форма дифениламина бесцветна, и конечная окраска раствора связана с зеленым цветом ионов трехвалентного хрома. Для маскировки ионов трехвалентного железа в раствор добавляют несколько капель концентрированной ортофосфорной кислоты.

Титрование бихромат-ионов с фенилантраниловой кислотой. В качестве индикатора при титровании бихромата калия раствором соли Мора можно использовать вместо дифениламина фенилантраниловую кислоту. Эта модификация была предложена В.Н. Симаковым. Концентрация серной кислоты в титруемом растворе должна быть 15 – 20 н., поэтому после проведения озоления и обмывания воронки-холодильника к раствору прибавляют 3–5 капель 0,2%-го раствора фенилантраниловой кислоты и титруют в той же колбе, в которой проводилось озоление, 0,1 н. раствором соли Мора до перехода окраски из вишнево-фиолетовой в зеленую. Раствор соли Мора в конце титрования приливают по каплям, так как переход окраски очень резкий. Так же как и дифениламин, фенилантраниловая кислота в восстановленной форме бесцветна, и конечная окраска раствора обусловлена присутствием ионов Cr^{3+}.

Определение нормальности бихромата калия. Поскольку при нагревании бихромат калия может подвергнуться частичному разложению, одновременно с основным анализом следует провести определение его нормальности. Для этого в чистую сухую колбу вносят ~ 0,2 г растертой в порошок прокаленной пемзы или почвы, чтобы обеспечить равномерное кипение жидкости и исключить перегревание, и приливают точно из

бюретки 10 $см^3$ раствора бихромата в серной кислоте. Дальше анализ ведут так же, как и для испытуемых образцов.

Вычисление результатов определения углерода проводят по уравнению

$$\%C = \frac{(a-b)\cdot н.\cdot 0{,}003}{m}\cdot 100,$$

где a – количество соли Мора, пошедшее на титрование при определении нормальности раствора бихромата, $см^3$; b – количесто соли Мора, пошедшее на титрование хромовой смеси после сжигания пробы, $см^3$; $(a - b)$ – количество раствора соли Мора, соответствующее количеству бихромата, израсходованного на окисление органического вещества, $см^3$; *н.* – нормальность соли Мора; *0,003* – масса 1 ммоль(экв) углерода в реакции (1), г; m – абсолютно сухая навеска, г.

Реактивы

1. Хромовая смесь – 0,4 н. $K_2Cr_2O_7$ в разбавленной 1:1 серной кислоте. Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.
2. Соль Мора 0,2 н. $[(NH_4)_2SO_4 \cdot FeSO_4 \cdot 6H_2O$. Приготовление и определение нормальности см. в ПРИЛОЖЕНИИ.
3. Раствор пирогаллола. Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.
4. Раствор дифениламина (индикатор). Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.
5. Фенилантраниловая кислота (индикатор). Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.
6. Раствор $KMnO_4$ 0,1 н. (для установления титра соли Мора). Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

Определение содержания органического вещества по методу Тюрина в модификации ЦИНАО (ГОСТ 26213)

Метод основан на окислении органического вещества раствором двухромовокислого калия в серной кислоте и последующем определении трехвалентного хрома, эквивалентного содержанию органического вещества, на фотоэлектроколориметре.

Метод не пригоден для проб с массовой долей хлорида более 0,6% и проб с массовой долей органического вещества более 15%.

Из размолотой почвы или породы отбирают представительную пробу массой 3–5 г для тонкого измельчения. Перед измельчением из пробы удаляют пинцетом видимые невооруженным глазом неразложившиеся корни и растительные остатки. Затем пробу полностью измельчают и пропускают через плетеное сито с отверстиями диаметром 0,25 мм. Для тонкого измельчения используют ступки и измельчительные устройства из фарфора, стали и других твердых материалов.

Ход анализа

Окисление органического вещества. Массу пробы почвы или породы для анализа определяют, исходя из предполагаемого содержания органического вещества:

Массовая доля органического вещества,%	*Масса пробы для анализа, мг*
до 2	500 – 700
2 – 4	250 – 350
4 – 7	100 – 200
более 7	50 – 100

Пробы почвы или породы взвешивают с погрешностью не более 1 мг и помещают в пробирки, установленные в штативы. К пробам приливают по 10 $см^3$ хромовой смеси. В каждую пробирку помещают стеклянную палочку и тщательно перемешивают пробу с хромовой смесью. Затем штативы с пробирками опускают в кипящую водяную баню. Уровень воды в бане должен быть на 2 – 3 см выше уровня хромовой смеси в пробирках. Продолжительность нагревания суспензий – 1 ч с момента закипания воды в бане после погружения в нее пробирок. Содержимое пробирок перемешивают стеклянными палочками через каждые 20 мин. По истечении 1 ч штативы с пробирками помещают в водяную баню с холодной водой. После охлаждения в пробирки приливают по 40 $см^3$ воды. Затем из пробирок вынимают палочки, тщательно перемешивают суспензии барбатацией воздуха и оставляют для оседания твердых частиц и полного осветления надосадочной части раствора. Вместо отстаивания допускается проводить фильтрование суспензий через беззольные фильтры (синяя лента).

Приготовление растворов сравнения. В девять пробирок наливают по 10 $см^3$ хромовой смеси и нагревают их в течение 1 ч в кипящей водяной бане вместе с анализируемыми пробами. После охлаждения в пробирки приливают указанные далее в таблице объемы дистиллированной воды и раствора восстановителя. Растворы тщательно перемешивают барбатацией воздуха.

Характеристика раствора	Номер раствора сравнения								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Объем воды, $см^3$	40	38	36	32	30	25	20	15	10
Объем раствора восстановителя, $см^3$	0	2	4	8	10	15	23	25	30
Масса органического вещества, эквивалентная объему восстановителя									
в р-ре сравнения, мг	0	1,03	2,07	4,14	5,17	7,76	10,3	12.9	15,5

Фотометрирование растворов проводят в кювете с толщиной просвечиваемого слоя 1 – 2 см относительно раствора сравнения № 1 при длине волны 590 нм или используя оранжево-красный светофильтр с максимумом пропускания в области 560 – 600 нм. Растворы в кювету фотоэлектроколориметра переносят осторожно, не взмучивая осадка.

Расчет. Массу органического вещества в анализируемой пробе определяют по градуировочному графику. При построении градуировочного графика по оси абсцисс откладывают массу органического вещества в миллиграммах, соответствующую объему восстановителя в растворе сравнения, а по оси ординат – соответствующее показание прибора.

Массовую долю органического вещества (X) в процентах вычисляют

по уравнению $$X = \frac{m \cdot K}{m_1} \cdot 100,$$

где m – масса органического вещества в. анализируемой пробе, найденная по графику, мг; K – коэффициент поправки концентрации восстановителя; m_1 – масса пробы, мг; 100 – коэффициент пересчета в проценты.

Допускаемые относительные отклонения от аттестованного значения стандартного образца для двусторонней доверительной вероятности $P = 0,95$ таковы:

Массовая доля органического вещества,%	*Допускаемые отклонения, % (отн.)*
менее 3	20
3 – 5	15
более 5	10

Реактивы

1. Хромовая смесь – 0,4 н. $K_2Cr_2O_7$ в разбавленной 1:1 серной кислоте. Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

2. Раствор восстановителя – Соль Мора концентрации $c[(NH_4)SO_4\ FeSO_4 \cdot H_2O]$ = 0,1 моль/дм^3 или раствора железа (II) сернокислого семиводного концентрации с ($FeSO_4 \cdot H_2O$) = 0,1 моль/дм^3. Приготовление и определение нормальности см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

3. Раствор калия марганцовокислого концентрации $c(1/5\ KMnO_4)$ = 0,1 моль/ дм^3 (0,1 н.), готовят из стандарт-титра.

4. Щелочной раствор сернистокислого натрия. Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

5. Кислота серная по ГОСТ 4204 концентрированная и раствор концентрации $c(1/2\ H_2SO_4)$ = 1 моль/дм^3.

6. Вода дистиллированная.

Аппаратура и материалы

1. Фотоэлектроколориметр.
2. Баня водяная.
3. Весы торзионные или другие с погрешностью не более 1 мг.
4. Пробирки стеклянные термостойкие вместимостью 50 см^3 по ГОСТу 23932.
5. Штатив для пробирок.
6. Бюретка или дозатор для отмеривания 10 см^3 хромовой смеси.
7. Палочки стеклянные длиной 30 см.
8. Цилиндр или дозатор для отмеривания 40 см^3 воды.
9. Груша резиновая со стеклянной трубкой или устройство для барбатации.
10. Бюретка вместимостью 50 см^3.
11. Колбы мерные вместимостью 1 дм^3.

12. Кружка фарфоровая вместимостью 2 $дм^3$.
13. Колба коническая вместимостью 1 $дм^3$.
14. Колбы конические вместимостью не менее 100 $см^3$.
15. Фильтры обеззоленные «синяя лента».

Определение гумуса в почве по Никитину с колориметрическим окончанием по Орлову-Гриндель

Принцип метода. Мокрое озоление органических соединений почвы проводят хромовой смесью при нагревании до 150°С в сушильном шкафу. Количество озоленного углерода органических соединений определяют по количеству образовавшихся в результате реакции ионов трехвалентного хрома (Cr^{3+}). Они имеют зеленую окраску. Оптическая плотность их растворов подчиняется закону Бугера-Бера, и, следовательно, их концентрация может быть определена колориметрически.

Как уже упоминалось, для обеспечения полноты озоления в растворе после сжигания должно оставаться некоторое количество бихромат-ионов, которые имеют желто-оранжевую окраску. В результате окраска смеси после сжигания буровато-коричневая. Присутствие окрашенных в желтый цвет бихромат-ионов не мешает, однако, определению ионов трехвалентного хрома, так как их спектры поглощения различны. При длине волны 590 нм поглощение ионов Cr^{3+} близко к максимальному, а поглощение ионов бихромата практически равно нулю. Следовательно, оптическая плотность смеси растворов бихромат-ионов и ионов Cr^{3+}, измеренная при этой длине волны, практически соответствует концентрации Cr^{3+}. При измерении оптической плотности на фотоэлектроколориметре используют оранжевый светофильтр.

Описываемая модификация имеет ряд преимуществ перед методом Тюрина. Во-первых, сжигание в сушильном шкафу обеспечивает более высокую производительность анализа и, возможно, большую его воспроизводимость. Во-вторых, прямое определение ионов Cr^{3+}, образующихся в результате реакции, а не остаточного количества бихромат-ионов позволяет избежать ошибок, связанных с неточным приливанием раствора бихромата, а также исключает необходимость определения его нормальности.

Ход анализа

Навеску подготовленной для определения органического углерода пробы почвы помещают в конические колбы на 100 $см^3$. Величина навески должна быть такой же, как в методе Тюрина. В колбы с навесками приливают из бюретки по 20 $см^3$ хромовой смеси, осторожно перемешивают и закрывают воронками.

Колбы ставят на поднос и помещают в сушильный шкаф, предварительно нагретый до 150°С. Колбы следует ставить на расстоянии 3 – 4 см от стенок шкафа для обеспечения более равномерного нагрева.

Через 20 мин после того, как температура в шкафу вновь поднимется до 150°С, колбы вынимают и дают им охладиться. Затем приливают по 20 $см^3$ воды, дают почве осесть на дно колбы и осторожно сливают в пробирки. Через сутки раствор фотометрируют в кюветах на 5 мм при длине волны 590 нм или с оранжевым светофильтром.

В качестве раствора сравнения желательно использовать не воду, а холостую пробу. Холостую пробу следует ставить в сушильный шкаф одновременно с опытными колбами. Она приготовляется в двукратной повторности.

Содержание углерода находят по калибровочному графику. Для построения калибровочного графика используют раствор глюкозы или сахарозы.

Калибровочный график. Отвешивают на аналитических весах 2,5022 г глюкозы или 2,3771 г сахарозы и растворяют в мерной колбе на 1 $дм^3$ дистиллированной воды. В 1 $см^3$ такого раствора содержится 1 мг углерода. В конические колбы на 100 $см^3$ приливают последовательно 0; 2,5; 5,0; 10,0; 15,0; 20,0 $см^3$ раствора. Раствор выпаривают на водяной бане до последней капли. Затем приливают из бюретки по 20 $см^3$ хромовой смеси. Колбы помещают в сушильный шкаф так же, как колбы с пробами почвы. После сжигания добавляют по 20 $см^3$ воды и через сутки колориметрируют. По найденным значениям оптических плотностей и содержанию углерода строится калибровочный график.

Объем раствора глюкозы или сахарозы, $см^3$	0	2,5	5,0	10,0	15,0	20,0
Содержание углерода, мг	0	2,5	5,0	10,0	15,0	20,0

Содержание углерода (в%) рассчитывают по формуле $C = \frac{a}{m} \cdot 100$,

где a – содержание углерода в пробе, найденное по графику, мг; m – навеска почвы, г.

Определение гумуса в модификации Антоновой, Скалабян, Сучилкиной

Принцип метода. В методе Тюрина и Никитина мокрое озоление органических соединений почвы проводят хромовой смесью при нагревании. При этом температура нагревания и его длительность оказывают существенное влияние на полноту окисления органических соединений. Поскольку условия нагревания не всегда можно строго контролировать, это приводит к снижению воспроизводимости результатов определения углерода. В предлагаемой ниже модификации озоление органических соединений производится в течение более длительного времени, но без нагревания.

Ход анализа

Навеску почвы (~0,5 г) берут на аналитических весах из пробы почвы, подготовленной для определения общего содержания углерода органических соединений.

Навеску переносят в коническую колбу на 100 $см^3$, приливают из бюретки 20 $см^3$ 0,4 н. раствора бихромата калия в концентрированной серной кислоте и оставляют при температуре 18 – 20°С на 24 ч. Одновременно ставят холостую пробу.

После этого содержание углерода определяют так, как это принято в методе Тюрина, или используя колориметрическое окончание в модификации Орлова-Гриндель.

Определение группового и фракционного состава гумуса

Гумусовые вещества – гетерогенная система органических соединений сложного состава и строения. Поэтому всякая методика разделения гумуса на фракции до известной степени условна.

В основе изучения качественного состава гумуса лежит методика И.В. Тюрина, основанная на выделении в раствор различных групп и фракций гумусовых веществ. Метод Тюрина известен в настоящее время в нескольких модификациях. Приводимая здесь модификация Пономаревой-Плотниковой отличается от основной методики Тюрина тем, что длительная попеременная обработка почвы кислотой и щелочью для выделения прочно связанных гумусовых веществ заменена однократной обработкой 0,02 н. раствором NaOH при нагревании, что предотвращает гидролиз гуминовых кислот в процессе экстракции.

Схема разделения гумусовых соединений по методу Тюрина в модификации Пономаревой-Плотниковой предусматривает определение трех основных типов гумусовых веществ:

1) воскосмолы и битумы, растворимые в спиртобензольной смеси;
2) гуминовые и фульвокислоты;
3) гумин – нерастворимый остаток гумусовых веществ.

В составе гуминовых и фульвокислот выделяют несколько фракций, различающихся по формам связи с минеральными компонентами почвы (табл. 19).

Из таблицы 19 видно, что количество гуминовых кислот фракций 1 находят по результатам определения углерода в непосредственной щелочной вытяжке, а фракции 3 – в щелочной вытяжке при нагревании. Количество гуминовых кислот фракции 2 находят путем вычитания количества ГК в непосредственной вытяжке из Сгк в щелочной вытяжке после декальцирования.

19. Схема разделения фракций гуминовых и фульвокислот по методу Тюрина в модификации Пономаревой-Плотниковой.

№ навески, экстрагент	Название вытяжки*	Фракции, переходящие в вытяжку		Состав соединений, входящих во фракции
		ГК	ФК	
№ 1. 0,1 н. NaOH	непосредственная щелочная вытяжка	1 ГК	1 и 1а ФК	свободные и связанные с подвижными полуторными окислами ФК и ГК
№ 2. 0,1 н. H_2SO_4	декальцирование почвы	-	1а ФК	свободные и связанные с подвижными полуторными окислами ФК (так называемая «агрессивная» фракция)
0,1 н. NaOH	щелочная вытяжка после декальцирования	1 и 2 ГК	1 и 2 ФК	свободные и связанные с подвижными полуторными окислами (фракции 1) и связанные с кальцием (фракции 2) ГК и ФК
0,02 н. NaOH при 6-часовом нагревании на водяной бане	щелочная вытяжка при нагревании	3 ГК	3 ФК	связанные с глинистыми минералами и устойчивыми полуторными окислами ФК и ГК

*Для навески № 2 вытяжки получают последовательным воздействием перечисленных экстрагентов.

Фракция 1а фульвокислот соответствует результатам анализа декальцината, фракция 3 – определению содержания ФК в щелочной вытяжке при нагревании. Фракция 1 фульвокислот вычисляется как разность между содержанием ФК в непосредственной щелочной вытяжке и в декальцинате. Чтобы найти фракцию 2 фульвокислот, суммируют результаты определения ФК в декальцинате и в щелочной вытяжке после декальцирования и из этой суммы вычитают количество ФК, найденное в непосредственной щелочной вытяжке.

Вычисление результатов определения группового и фракционного состава гумуса. Количество углерода гуминовых и фульвокислот различных групп находят так же, как количество общего углерода в методе Тюрина. Если вычисляют содержание в процентах к почве, то

$$\% C_{гк(фк)} = \frac{(a - b) \cdot н. \cdot 0{,}003 \cdot 100}{m},$$

где a – количество соли Мора, пошедшее на титрование исходного раствора бихромата, $см^3$; b – количество соли Мора, пошедшее на титрование избытка бихромата после окисления гумусовых веществ, $см^3$; $н.$ – нормальность соли Мора; m – навеска почвы, отвечающая объему

раствора гумусовых веществ, взятому для определения углерода (т.е. с учетом всех последовательных разбавлений), г.

Содержание углерода отдельных групп и фракций в процентах к общему содержанию углерода находят по формуле

$$\%\, C_{гк(фк)} = \frac{(a - b) \cdot н. \cdot 0{,}003 \cdot 100}{m \cdot \%\, C_{общ}},$$

Количество гумина в процентах к почве находят так же, как и общее содержание гумуса, но с поправкой на уменьшение навески в ходе анализа группового состава:

$$\%\, C_г = \frac{(a - b) \cdot н. \cdot 0{,}003 \cdot 100 \cdot q_2}{m' \cdot q_1},$$

где m' – навеска остатка почвы, взятая для определения гумина, г; q_1 – вес почвы, взятый для определения группового состава гумуса; q_2 – вес остатка почвы после извлечения растворимых гумусовых веществ, г.

Содержание углерода гумина в процентах к общему содержанию углерода находят по формуле

$$\%\, C_г = \frac{(a - b) \cdot н. \cdot 0{,}003 \cdot 100 \cdot q_2}{m' \cdot q_1 \cdot \%C_{общ}}$$

Подготовка образцов почв для определения группового и фракционного состава гумуса

Из воздушно-сухого образца почвы берут среднюю аналитическую пробу весом ~ 100 г. Так же как и при подготовке почвы для определения общего содержания гумуса, очень важно тщательно выбрать из почвы неразложившиеся растительные остатки (см. на с. 211). По мере отделения корешков почву аккуратно раздавливают в ступке и просеивают через сито с диаметром отверстий 1 мм.

Определение воскосмол и битумов

Это определение авторы метода считают необязательным для большинства минеральных почв и рекомендуют при анализе органического вещества торфяных почв и лесных подстилок. Для определения воскосмол и битумов навески почв (10 – 20 г) экстрагируют в аппарате Сокслета смесью спирта и бензола (1 : 1). Фракция определяется по весу после отгонки органического растворителя на водяной бане и высушивания остатка до постоянного веса при температуре 70 – 80°С. Содержание углерода в этой фракции принимается равным 72%.

Выделение фракций гуминовых и фульвокислот

Непосредственная щелочная вытяжка

В эту вытяжку переходят свободные и предположительно связанные с подвижными полуторными окислами гумусовые кислоты – фракция 1 ГК и фракции 1 и 1а ФК (табл. 19).

Ход анализа

В коническую колбу на 300 – 400 см^3 берут навеску почвы от 2,5 до 20 г в зависимости от содержания в почве гумуса. Определение содержания гумуса должно предшествовать определению его качественного состава, так как величина навески устанавливается исходя из его процентного содержания в почве.

Навеска, г	2,5	5 – 10	10 – 15	20
Гумус, %	> 10	10 – 3	3 – 0,5	< 0,5

Приливают цилиндром 200 см^3 0,1 н. раствора NaOH, перемешивают и оставляют на ночь, закрыв колбу корковой пробкой. Затем приливают пипеткой 50 см^3 насыщенного раствора Na_2SO_4 для коагуляции илистых частиц, перемешивают и оставляют на 15 – 20 мин. После этого перемешивают еще раз и отфильтровывают через бумажный фильтр диаметром 15 – 17 см, перенося почву на фильтр. Первые порции фильтрата перефильтровывают, добиваясь абсолютной прозрачности фильтрата.

В отдельных аликвотах 10 – 50 см^3 вытяжки определяют общее содержание углерода органических соединений и содержание углерода фульвокислот.

Определение углерода гуминовых и фульвокислот в щелочных вытяжках

Во все щелочные вытяжки, используемые при разделении гумусовых веществ по фракциям, переходят как гуминовые, так и фульвокислоты. Для разделения гуминовых и фульвокислот эти вытяжки нейтрализуют кислотой. При этом гуминовые кислоты выпадают в осадок, а фульвокислоты остаются в растворе. Осадок гуминовых кислот отделяют центрифугированием или фильтрованием.

Общее содержание углерода гуминовых и фульвокислот в щелочных вытяжках

10 – 15 см^3 отфильтрованной вытяжки переносят в коническую колбу на 100 см^3, добавляют на кончике скальпеля порошок прокаленной пемзы и выпаривают до последней капли на кипящей водяной бане. Окончательное досушивание осадка проводят в сушильном шкафу при температуре 80 – 90°С. Мокрое озоление и последующее определение содержания углерода проводят так, как описано на с. 214 - 215 или 218.

Содержание углерода гуминовых кислот

Аликвоту щелочной вытяжки 50 – 100 $см^3$ берут пипеткой в коническую колбу на 200 $см^3$. Прибавляют пипеткой двойное эквивалентное количество 1,0 н. раствора H_2SO_4. Концентрация свободной серной кислоты должна быть в подкисленной вытяжке около 0,05 н. и pH раствора 1,3 – 2,5. Осаждение гуминовых кислот концентрированной серной кислотой недопустимо. Раствор нагревают до 70 – 80°С, не доводя до кипения.

Образовавшийся осадок гуминовых кислот отфильтровывают через беззольный фильтр декантацией и промывают 2 – 3 раза слабым раствором серной кислоты (0,05 – 0,1 н. H_2SO_4).

Воронку с осадком гуминовых кислот на фильтре вставляют в ту же колбу, в которой проводилось осаждение, так как на их стенках всегда остаются частицы гуминовых кислот. На фильтр из промывалки приливают небольшие порции раствора 0,1 н. NaOH. Раствор переносят в мерную колбу на 100 $см^3$ щелочным раствором 0,1 н. NaOH и им же доводят объем до метки, перемешивают.

В этом растворе определяют общее содержание углерода согласно методике (с. 214 – 215 или 218). Оно соответствует содержанию гуминовых кислот в щелочной вытяжке. Содержание углерода фульвокислот вычисляют по разности между общим содержанием углерода щелочной вытяжки и содержанием углерода гуминовых кислот.

Декальцирование почвы

В эту вытяжку переходит только так называемая агрессивная фракция фульвокислот – фракция 1а.

Ход анализа

Навеску почвы берут такую же, как и для непосредственной щелочной вытяжки и переносят ее в колбу на 250 $см^3$. Приливают цилиндром 200 $см^3$ 0,1 н. раствора H_2SO_4, периодически перемешивая раствор, и оставляют на 24 ч. При изучении состава гумуса в почвах с большим содержанием полуторных окислов (подзолистые, бурые лесные и др.) следует брать для декальцирования 0,5 н. раствор H_2SO_4. Колбы должны быть закрыты пробками во избежание попадания пыли.

На следующий день вытяжку отфильтровывают декантацией в колбу на 500 – 1000 $см^3$ через рыхлый фильтр. После того как раствор отфильтрован, в стакан с почвой добавляют небольшими порциями 0,1 н. раствор H_2SO_4, перемешивают и продолжают фильтровать декантацией.

Затем всю навеску переносят на фильтр и продолжают промывание почвы на фильтре, периодически проводя пробу на кальций. Промывание почвы кислотой продолжают до полного вытеснения кальция. Затем промывают 2 – 3 раза водой, слабо подкисленной серной кислотой, для удаления из почвы излишней серной кислоты.

Пробу на кальций можно делать со щавелевокислым аммонием или с мурексидом. В стаканчик на 250 $см^3$ берут порцию фильтрата, нейтрализуют раствор аммиаком (если выпадает осадок полуторных окислов, его отфильтровывают), прибавляют 2 $см^3$ насыщенного раствора щавелевокислого аммония, оставляют на 15 мин в теплом месте. Полное отсутствие белого осадка щавелевокислого кальция указывает на полноту осаждения. *Пробу на кальций можно делать и трилонометрически.*

Фильтрат переносят в мерную колбу на 500 – 1000 $см^3$, доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают.

Карбонатные почвы декальцируют раствором соляной кислоты. К навеске почвы приливают количество 1 н. раствора HCl, приблизительно эквивалентное содержанию карбонатов или, если содержание карбонатов неизвестно, то раствор соляной кислоты приливают небольшими порциями при постоянном помешивании до прекращения вскипания. Затем прибавляют 200 – 250 $см^3$ 0,1 н. HCl и проверяют полноту осаждения карбонатов. Концентрация свободной HCl в растворе должна быть близка 0,1 н. На следующий день отфильтровывают, промывают сначала 0,1 н. раствором HCl до удаления Ca^{2+}, а затем 0,1 н. раствором H_2SO_4 до удаления хлорид-ионов.

Наличие в солянокислой вытяжке большого количества хлорионов, которые окисляются хромовой смесью, мешает определению углерода. Поэтому для приблизительного учета кислоторастворимой фракции органического вещества в образцах почв, содержащих карбонаты, отдельную навеску почвы заливают 0,1 н. раствором H_2SO_4 (200 $см^3$), как описано выше для некарбонатных почв, и определяют в ней органический углерод. В этом случае навеску почвы на воронке не промывают, и доводить фильтрат до определенного объема не требуется.

В аликвоте вытяжки (50 – 100 $см^3$) определяют общее содержание органического углерода. Для этого предварительно аликвоту, перенесенную в коническую колбу на 250 $см^3$ нейтрализуют сухой содой (≈ 0,2 – 2 г) до начала выпадения полуторных окислов. Затем определение проводят так, как описано в на с. 224 для щелочных вытяжек. При этом нужно иметь в виду, что органические вещества в кислой вытяжке легко подвергаются микробиологическому разложению, поэтому определение должно быть проведено в течение 2 – 3 дней с момента получения вытяжки.

Щелочная вытяжка после декальцирования почвы

В эту вытяжку переходят гуминовые и фульвокислоты, связанные в почве с кальцием, и растворимые в щелочи только после декальцирования почвы – фракции 2 ГК и ФК.

Ход анализа

Сразу после декальцирования почв влажные навески тщательно и осторожно смывают с бумажного фильтра в те же колбы 200 $см^3$ 0,1 н.

раствора NaOH (из промывалки). Эта операция требует большой тщательности и осторожности. Колбу закрывают воронкой диаметром 10 – 15 см с коротким и широким концом. Остатком щелочи обмывают широкогорлую воронку, вставленную в колбу. Если взятого количества щелочи недостаточно для смывания почвы с фильтра, следует добавить в промывалку еще 50 или 100 $см^3$ раствора 0,1 н. NaOH и продолжать смывание. После того как навески почвы полностью смыты с фильтра в колбы, их закрывают пробками или стеклами и оставляют на 20 – 24 ч, периодически встряхивая.

На следующий день приливают пипеткой 50 $см^3$ насыщенного раствора Na_2SO_4 для коагуляции тонких илистых частиц и ускорения фильтрации, перемешивают и оставляют на 10 – 15 мин. Затем снова перемешивают и сразу отфильтровывают через плотно пригнанный к воронке бумажный фильтр, перенося на него раствор вместе с почвой.

Остатки почвы в колбе и на воронке промывают 1 – 2% раствором Na_2SO_4 до полного или почти полного обесцвечивания промывных вод. Щелочную вытяжку вместе с промывными водами переносят в мерную колбу, доводят до метки водой и перемешивают.

В отдельных аликвотах вытяжки определяют общее содержание органического углерода и углерода гуминовых кислот (см. на с. 214 – 215 или 218). Углерод фульвокислот вычисляют по разности между общим углеродом щелочной вытяжки и углеродом гуминовых кислот.

Щелочная вытяжка при нагревании

В эту вытяжку переходят гуминовые кислоты и фульвокислоты, прочно связанные с глинистыми минералами и устойчивыми формами полуторных окислов (фракции 3 ГК и ФК).

Ход анализа

Остаток почвы после предыдущей щелочной вытяжки в сыром состоянии смывают в ту же колбу на 200 $см^3$ 0,02 н. раствором NaOH, подогретым до 70 – 80°С. Колбу накрывают часовым стеклом во избежание испарения жидкости и нагревают на кипящей бане в течение 6 ч.

Охлаждают вытяжку до комнатной температуры и приливают цилиндром 50 $см^3$ насыщенного раствора Na_2SO_4. Отфильтровывают и промывают остаток почвы на фильтре, как описано для предыдущей вытяжки. Вытяжку вместе с промывными водами переносят в мерную колбу, доводят до метки водой, перемешивают и определяют общее содержание органического углерода и углерода гуминовых кислот (см. на с. 218, 224).

Определение остатка гумуса (гумина)

Углерод гумина авторы метода рекомендуют определять по разности между общим содержанием органического углерода в почве и

20. Содержание органического углерода в вытяжках из почв

Показатель	$C_{общ}$ почвы, %	Непосредственная 0,1 н. NaOH-вытяжка			0,1 н. H_2SO_4 - вытяжка	0,1н. NaOH – вытяжка после декальцирования			0,02 н. NaOH-вытяжка при нагревании		
		$C_{общ}$	$C_{гк}$ 1	$C_{фк}$ 1+ 1а	$C_{фк}$ 1а	$C_{общ}$	Сгк 1+2	$C_{фк}$ 1+2	$C_{общ}$	$C_{гк}$ 3	$C_{фк}$ 3
%С к почве	3,44	0.35	0.07	0,28	0,12	1,45	1,11	0,34	0,60	0,29	0,31
%С к Собщ	100	10,2	2,0	8,2	3,4	42,1	32,2	9,9	17,5	8,5	9,0

21. Содержание углерода во фракциях гумуса, % к Собщ почвы

$C_{общ}$, %	$C_{гк}$				$C_{фк}$					$C_{гк} + C_{фк}$	$\frac{C_{гк}}{C_{фк}}$	Гумин
	1	2	3	сумма	1а	1	2	3	сумма			
3,44	2,0	30,2	8,5	40,7	3,4	4,8	5,1	9,0	22,3	63,0	1,8	37,0

суммарным содержанием углерода в кислотной вытяжки при декальцинировании, щелочной вытяжке после декальцинирования и щелочной вытяжке при нагревании (фракции 1, 2, 3 ГК и 1, 1а, 2, 3 ФК). Все случайные и систематические ошибки анализа относятся в этом случае за счет негидролизуемого остатка.

Представление результатов анализа.

Для вычисления содержания углерода различных групп и фракций гумусовых веществ результаты его определения заносят в рабочую таблицу 20, на основании данных этой таблицы легко вычислить содержание углерода во фракциях гумуса (табл. 21).

Ускоренный пирофосфатный метод определения состава гумуса по Кононовой и Бельчиковой

Применение пирофосфатного метода позволяет ускорить выделение гумусовых веществ из почвы. В водной и щелочной вытяжках пирофосфаты кальция, железа и алюминия труднорастворимы. При взаимодействии пирофосфата натрия $Na_4P_2O_7$ с гуматами кальция и полуторных окислов образуются соединения типа $Ca_2P_2O_7 \cdot 5\ H_2O$ и $Fe_4(P_2O_7)_3 \cdot 9\ H_2O$, нерастворимые в воде, но частично растворимые в избытке пирофосфата с образованием комплексных солей. Поэтому реакция образования гуматов натрия протекает с большой полнотой и выход гуматов при однократной зкстракции повышается. В отличие от действия кислот при декальцировании пирофосфат не разрушает несиликатные формы полуторных окислов и не извлекает алюминий и железо из материнских пород. Наибольшее количество гумусовых веществ, по Кононовой, извлекается щелочным раствором пирофосфата натрия с pH около 13. Благодаря этому применение пирофосфата в некоторой степени заменяет декальцирование почвы. Вместо длительного отмывания используется однократное настаивание почвы со смесью пирофосфата натрия и NaOH без последующего промывания водой, что также значительно сокращает время анализа.

При такой обработке почвы выход гумусовых веществ, по данным авторов, близок к результатам по сокращенной схеме Тюрина (гумусовые вещества, извлекаемые 0,1 н. раствором NaOH декальцированной почвы, и вещества декальцита). В пирофосфатную вытяжку переходят гумусовые вещества, свободные и связанные с несиликатными формами железа и алюминия, а также связанные с кальцием. Разграничение этих двух фракций производится путем дополнительного определения количества гумусовых веществ, извлекаемых из недекальцированной почвы 1 н. раствором NaOH.

Ход анализа

На технических весах берут 10 г почвы и переносят в коническую колбу на 250 – 300 $см^3$. Приливают цилиндром 200 $см^3$ свежеприготовленного раствора пирофосфата натрия и закрывают колбу резиновой пробкой для изоляции от углекислого газа. Колбу с раствором оставляют на 16 – 18 ч, перемешивая несколько раз.

Прибавляют пипеткой 50 $см^3$ насыщенного раствора Na_2SO_4 (т.е. в количестве 1/4 объема жидкости) для коагуляции илистых частиц и ускорения фильтрации, оставляют на 15 – 20 мин, перемешивают и фильтруют через гладкий бумажный фильтр диаметром 15 – 17 см, перенося первые порции фильтрата снова на фильтр до тех пор, пока фильтрат не будет прозрачным.

Берут пипеткой от 2 до 50 $см^3$ фильтрата (в зависимости от интенсивности окраски) для определения общего углерода. Выпаривают на этернитовой плитке, а под конец досуха – на водяной бане и определяют количество углерода по Тюрину, добавлял прокаленную пемзу. Определение ведется в двух повторностях.

Определение содержания гуминовых кислот.

Берут пипеткой 20 - 50 $см^3$ пирофосфатиой вытяжки в коническую колбу на 100 $см^3$. Прибавляют пипеткой соответственно 18 или 25 $см^3$ 1,0 н. Раствора серной кислоты, доводя pH раствора до 1,3 – 1,5. Колбу ставят на водяную баню и при 70 – 80°С нагревают до образования и отстаивания хлопьев гуминовой кислоты. Теплый раствор отфильтровывают через небольшой фильтр (белая лента).

Осадок гуминовых кислот в колбе и на фильтре промывают 2 – 3 раза от примеси фульвокислот слабым раствором серной кислоты (0,05 – 0,1 н.). Воронку с осадком гуминовых кислот вставляют в ту же колбу, в которой проводилось осаждение. Осадок на фильтре и в колбе растворяют из промывалки небольшими порциями горячего раствора 0,1 н. NaOH. Раствор охлаждают, переносят в мерную колбу на 100 $см^3$, ополаскивая небольшими порциями воды, доводят водой до метки, перемешивают.

Берут пипеткой 5 – 25 $см^3$ фильтрата в коническую колбу для определения углерода гуминовых кислот и определяют углерод гуминовых кислот по Тюрину.

Углерод фульвокислот вычисляется по разности между общим углеродом щелочной вытяжки и углеродом гуминовых кислот.

Свободные и связанные с подвижными формами R_2O_3 гуминовые кислоты определяют в непосредственной щелочной вытяжке из недекальцированной почвы так же, как в методе Пономаревой и Плотниковой (см. с. 220 - 221).

В той же вытяжке находят индекс оптической плотности гуминовых кислот, определяемый с синим светофильтром. Для определения индекса оптической плотности используется раствор гуминовых кислот в 0,1 н. NaOH с pH 12 – 13. Измерение проводится на фотоэлектроколориметре или спектрофотометре при длине волны 430 нм и толщине слоя раствора 1 см. Результаты выражаются индексом $E_c^{мг}/см^3$, который получают путем деления показателя экстинкции E на содержание в растворе органического углерода (мг/см^3).

Реактивы

1. Пирофосфат натрия с NaOH: 44,6 г $Na_4P_2O_7 \cdot 9H_2O$ и 4 г NaOH растворить в небольшом количестве дистиллированной воды и довести объем до 1 дм^3.

2. 1,0 н. H_2SO_4: 28 см^3 концентрированной H_2SO_4 (d = 1,84) на 1 дм^3 водного раствора.

3. 0,05 н. NaOH: 2 г NaOH растворить в 1 дм^3 дистиллированной воды.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ В ПОЧВЕ

В почвах определяют валовое содержание и подвижные формы микроэлементов.

Методы подготовки проб для определения валового содержания микроэлементов основаны на полном разложении почвы (сжигании органического вещества и разрушении минеральной части до образования легкорастворимых солей) и переведении ее в раствор.

Для разложения почв применяют две группы методов: сплавление и кислотную обработку.

Сплавление с тетраборатом стронция по Дженруа

Ход анализа

Навеску 0,1 г тонко измельченной (до пудры) пробы смешивают с 0,5 г плавня в графитовом или платиновом тигле и помещают в высокотемпературную муфельную печь. Сплавление проводят в течение 10 мин при температуре 1100°С до полной прозрачности плава. Плав выливают в 20–30 см^3 раствора разбавленной азотной кислоты и перемешивают до полного растворения. В тигель помещают 5–10 см^3 разбавленной азотной кислоты, с помощью магнитной мешалки растворяют остатки плава и добавляют к первому раствору. Объем раствора доводят бидистиллированной водой до 50 см^3. В растворе определяют макро- и микроэлементы атомно-абсорбционным, атомно-эмиссионным с индуктивно связанной плазмой (ИСП) или другим методом. В стандартные растворы сравнения вводят тетраборат стронция из расчета 0,5 г соли на 50 см^3 раствора сравнения.

Получение тетрабората стронция: смешивают тонко измельченные соли карбоната стронция ($SrCO_3$) и борной кислоты (H_3BO_3) в примерно равных весовых частях, нагревают в муфельной печи до 300°С с последующим выдерживанием в течение часа при температуре 700°С. Охлажденный продукт растирают и хранят в бюксе.

Аппаратура, материалы, реактивы

1. Весы лабораторные с метрологическими характеристиками по ГОСТ 24104.
2. Печь муфельная высокотемпературная.
3. Магнитная мешалка.
4. Тигли платиновые или графитовые.
5. Колбы мерные объемом 50 $см^3$ по ГОСТу 1770.
6. Стаканы объемом 100 $см^3$ по ГОСТу 25336.
7. Цилиндр мерный объемом 50 $см^3$ (ГОСТ 1770).
8. Стеклянные палочки.
9. Воронки лабораторные.
10. Стронций углекислый «х.ч.», ТУ 6-09-01-207-74.
11. Борная кислота по ГОСТу 9656 «х.ч.».
12. Кислота азотная по ГОСТу 11125 ««ос.ч.»» раствор в бидистиллированной воде 1:1 по объему.

Сплавление почв с метаборатом лития

Ход анализа

Навеску 0,1 г тонко измельченной (до пудры) пробы смешивают с 0,5 г метабората лития ($LiBO_3$) в платиновом тигле и сплавляют в течение 2 минут в муфельной печи при температуре 1000°С. В остывший тигель приливают 5 – 10 $см^3$ 3%-го раствора азотной кислоты и растворяют плав с помощью магнитной мешалки. Растворенный плав количественно переносят в колбу объемом 50 $см^3$. Обработку тигля повторяют. Раствор доводят до метки бидистиллированной водой.

Получение метабората лития: 17 г карбоната лития ($LiCO_3$) смешивают с 10 г борной кислоты (H_3BO_3) в платиновой чашке, помещают в холодную муфельную печь, постепенно поднимают температуру до 400°С и выдерживают при ней 4 ч. Охлажденный продукт растирают и хранят в бюксе.

Аппаратура, материалы, реактивы

1. Весы лабораторные с метрологическими характеристиками по ГОСТу 24104.
2. Печь муфельная высокотемпературная.
3. Магнитная мешалка.
4. Тигли платиновые.
5. Колбы мерные объемом 50 $см^3$ по ГОСТу 1770.
6. Цилиндр мерный объемом 50 $см^3$ по ГОСТу 1770.
7. Стеклянные палочки.
8. Воронки лабораторные.
9. Литий углекислый, «х.ч.» ТУ 6-09-3728-78.
10. Борная кислота (ГОСТ 9656 «х.ч.»).
11. Кислота азотная (ГОСТ 11125 ««ос.ч.»»), раствор в бидистиллированной воде с массовой долей 3%.

Определение валового содержания тяжелых металлов в почве

Для определения в почвах валового содержания тяжелых металлов, за исключением кремния, пробу разлагают смесью HNO_3, HCl и HF. Разложение почв этими кислотами в замкнутой системе (автоклавы, бомбы из фторопласта) обеспечивает возможность определения кремния.

Ход анализа

На аналитических весах берут навеску массой 1 – 2 г тонко растертой (до пудры) почвы, помещают ее в фарфоровую (кварцевую) чашку и прокаливают 2 – 3 ч. при 450 – 500°С в муфельной печи. Определяют потерю веса после прокаливания.

Для разложения прокаленную почву количественно переносят в стаканчик из фторопласта. Если почва относится к карбонатным ее обрабатывают 10 $см^3$ 10%-го раствора HNO_3 при нагревании на песчаной бане для растворения карбонатов. Об окончании разложения карбонатов узнают по завершению выделения пузырьков углекислоты.

Полученную надосадочную жидкость, содержащую большую часть щелочноземельных металлов почв, фильтруют через беззольный фильтр в мерную колбу емкостью 100 $см^3$, а почву в стаканчике подвергают дальнейшей обработке. К некарбонатной почве (или остатку после удаления карбонатов) приливают из цилиндра 5 $см^3$ царской водки. Затем с помощью пластикового цилиндра приливают 15 $см^3$ концентрированной (40%-й) HF.

Стаканчик медленно нагревают на песчаной бане (или этернитовой плитке) до образования мокрых солей. Затем снова добавляют в стаканчик 10 $см^3$ концентрированной HF и выпаривают содержимое до сухого остатка. К сухому остатку прибавляют 5 см концентрированной HNO_3 и смесь снова выпаривают досуха до полного удаления фтора.

К остатку приливают 10 $см^3$ разбавленной (1:1) исходно концентрированной HNO_3, нагревают на плитке до растворения остатка и фильтруют через фильтр средней плотности «белая лента» в мерную колбу емкостью 100 $см^3$.

Фильтрат карбонатных почв объединяют с фильтратом после растворения карбонатов. Фильтр и стаканчик промывают несколько раз 0,5 М HNO_3 до отсутствия реакции на железо с роданидом калия. Колбу доводят до метки 0,5 М HNO_3, полученный раствор используют для определения макро- и микроэлементов.

Аппаратура, реактивы, материалы.

1. Весы лабораторные с метрологическими характеристиками (ГОСТ 24104).
2. Муфельная или электропечь сопротивления камерная лабораторная.
3. Электроплитка бытовая (ГОСТ 1419).
4. Песчаная баня.
5. Фторопластовые стаканчики, фарфоровые и кварцевые чашки.
6. Цилиндры мерные пластиковые объемом 10 $см^3$.

7. Цилиндры стеклянные объемом 5 и 10 $см^3$ по ГОСТу.
8. Колбы мерные объемом 100 $см^3$ по ГОСТу 1770.
9. Воронки лабораторные по ГОСТу 25336.
10. Фильтры беззольные «белая лента».
11. Кислота азотная (ГОСТ 11125) «ос.ч.».
12. Кислота азотная (ГОСТ 11125) «ос.ч.», раствор в бидистиллированной воде с массовой долей 10%.
13. Кислота азотная (ГОСТ 11125) «ос.ч.», раствор в бидистиллированной воде 1:1 по объему.
14. Кислота азотная (ГОСТ 11125) «ос.ч.», раствор в бидистиллированной воде 0,5 М.
15. Царская водка – смесь 1 объема концентрированной азотной кислоты (ГОСТ 11125 «ос.ч.») с 3-мя объемами концентрированной соляной кислоты (ГОСТ 14261).
16. Фторводородная кислота концентрация 40% (ГОСТ 10484) «х.ч.» Фторводородная (плавиковая кислота) хранится в пластиковой посуде, так как растворяет стекло. Пары фторводорода очень ядовиты, поэтому все работы с фторводородной кислотой необходимо проводить под парафинированными тягами в защитной маске. Руки необходимо защитить резиновыми перчатками.

Определение содержания кислоторастворимых форм соединений тяжелых металлов в почве

Методика предполагает экстракцию соединений металлов 1 М соляной или азотной кислотой и была изначально предложена для определения доступных форм соединений кобальта и меди в почвах нечерноземной зоны Я.В. Пейве и Г.Я. Ринкисом. В последние годы эта методика успешно используется для извлечения элементов из почв, подверженных техногенным воздействиям и загрязненных соединениями Zn, Cu, Ni, Co, Mn, Pb, Cd и некоторых других элементов.

Ход анализа

Воздушно-сухую почву, пропущенную через сито 1 мм взвешивают на технических весах и помещают в конические колбы объемом 150 $см^3$, почву заливают 1 М раствором соляной или азотной кислоты при отношении почвы к раствору 1:10. Время взаимодействия почвы с раствором 1 ч при взбалтывании на ротаторе. Взбалтывание можно заменить 24-часовым настаиванием.

Полученную суспензию фильтруют через складчатый беззольный фильтр «белая лента», первые порции фильтрата отбрасывают, в последующих определяют микроэлементы атомно-абсорбционным методом в пламени ацетилен – воздух или любым другим методом.

Аппаратура, реактивы, материалы

1. Ротатор.
2. Колбы конические Эрленмейера объемом 150 $см^3$.
3. Воронки лабораторные по ГОСТу 25336.
4. Цилиндры мерные объемом 50 $см^3$ по ГОСТу 1770.
5. Фильтры беззольные «белая лента».

6. Кислота азотная по ГОСТу 11125 «ос.ч.». раствор в бидистиллированной воде с концентрацией 1 М.
7. Кислота соляная по ГОСТу 14261 «ос.ч.». раствор в бидистиллированной воде с концентрацией 1 М.

Определение содержания подвижных форм биогенных микроэлементов в почве

В агрохимических исследованиях наиболее информативным показателем состояния микроэлементов является содержание их подвижных форм. Именно на основании данных о количестве подвижных форм судят об обеспеченности почв (и сельскохозяйственных культур) микроэлементами.

В зависимости от типа почвы разработаны и применяются различные методы извлечения подвижных форм микроэлементов (табл. 22).

Подвижные формы микроэлементов определяют в воздушно-сухой почве, измельченной и просеянной через сито с диаметром отверстий 2 мм. Для обеспечения репрезентативности пробы навеска должна быть не меньше 5 г.

Аппаратура, реактивы, материалы
1. Весы технические.
2. Ротатор или другая установка для встряхивания колб.
3. Колбы конические объемом 250 см^3 по ГОСТ.
4. Фильтры – «белая лента» ТУ 6-09-1678-77.
5. Реактивы приведены в табл. 22.

Если реактивы загрязнены микроэлементами, то производят их очистку:

Уксусная кислота – перегоняют в стеклянном аппарате со шлифами. В кислоту перед перегонкой добавляют небольшое количество уксуснокислого натрия. Концентрацию уксусной кислоты определяют по плотности. Перегоняют кислоту только в вытяжном шкафу. Нельзя пользоваться открытым огнем, так как ледяная кислота горюча.

Соли (уксуснокислый натрий, лимоннокислый натрий, тиосульфат натрия и др.) – в делительную воронку объемом 250 см^3 помещают 100 см^3 раствора соли, добавляют 50 см^3 0,02%-го раствора дитизона в четыреххлористом углероде и встряхивают в течение 3 мин. Если нижний слой окрашен в желтый цвет, то его отбрасывают и очистку дитизоном повторяют до тех пор, пока дитизоновый слой не будет сохранять зеленую окраску. Затем раствор солей очищают от дитизона. Для этого добавляют в делительную воронку 25–50 см^3 четыреххлористого углерода, встряхивают и отбрасывают нижний слой. Обработку повторяют до тех пор, пока

22. Методы извлечения подвижных форм микроэлементов из почв

Элемент	Экстрагирующий раствор	Отношение почва : раствор	Время взаимодействия	Область применения	Автор метода
Бор	H_2O	1:5	5 мин при кипячении	все почвы	Бергер и Труог*
Молибден	Оксалатный буферный раствор с pH 3,3	1:10	1 ч при взбалтывании на ротаторе	все почвы	Григг*
Марганец	0,1 н. H_2SO_4	1:10	–"–	почвы Нечерноземной зоны, красноземы	Пейве и Ринькис*
Медь	1М HCl	1:10	–"–	–"–	–"–
		1:20 для торфяных почв			
Цинк	1М KCl	1:10	–"–	–"–	–"–
Кобальт	1М HNO_3	1:10	–"–	–"–	–"–
		1:20 для торфяных почв			
Марганец, цинк, медь, кобальт	1М Ацетатно-аммонийный буферный раствор с pH 4,8	1:10	–"–	карбонатные и некарбонатные почвы	Крупский и * Александрова
Марганец, цинк, медь, кобальт	1 М Ацетатно-натриевый буферный раствор с pH 3,5	1:5	30 мин. на ротаторе	карбонатные почвы с содержанием $CaCO_3 < 25$ %	Круглова
	2 М Ацетатно-натриевый буферный раствор с pH 3,5			с содержанием $CaCO_3 > 25$%	
Марганец, цинк, медь, кобальт, молибден	1М Ацетатно-аммонийный буферный раствор с pH 4,5	1:5	перемешать и сутки настаивать	дерново-подзолистые почвы	Соловьев
	1М Ацетатно-аммонийный буферный раствор с pH 4,5 + ЭДТА	1:5			Соловьев

* – методы, утвержденные в качестве Государственного стандарта РФ.

23. Техника приготовления экстрагирующих растворов (1000 см^3) для извлечения подвижных форм микроэлементов

Экстрагирующий раствор	Реактивы	Количество (объем) реактива)	Дополнительные условия
1	2	3	4
Оксалатный буферный раствор с pH 3,3 (реактив Тамма)	Аммоний щавелево-кислый (ГОСТ 5712) Щавелевая кислота (ГОСТ 5873)	25 г 12,6 г	Растворяют в горячей дистиллированной воде и после охлаждения доводят дистиллированной водой до метки
0,1 н. H_2SO_4	Серная кислота конц. (ГОСТ 4204, пл. 1,84 г/см^3)	2,8 см^3	В колбу, заполненную дистиллированной водой на 2/3 добавляют серную кислоту. После охлаждения доводят до метки дистиллированной водой
1М HCl	Соляная кислота конц. (ГОСТ 3118, пл. 1,19 г/см^3)	82 см^3	В колбу, заполненную бидистиллированной водой на 1/2 добавляют соляную кислоту. После охлаждения доводят до метки бидистиллированной водой
1М KCl	Калий хлористый «ос.ч.» ТУ 6-09-3678-74	75 г	Растворяют и доводят до метки бидистиллированной водой
1М HNO_3	Азотная кислота конц. (ГОСТ 4461, пл. 1,4 г/см^3)	67,2 см^3	В колбу, заполненную бидистиллированной водой на 1/2 добавляют азотную кислоту. После охлаждения доводят до метки бидистиллированной водой

Продолжение таблицы 23

1	2	3	4
Ацетатно-аммонийный буферный раствор с pH 4,8	Уксусная кислота (ГОСТ 61, 98%-ная) Аммиак водный (ГОСТ 3760, 25%-й)	108 $см^3$ 75 $см^3$	В колбу, заполненную бидистиллированной водой на 1/2, добавляют уксусную кислоту и аммиак. После охлаждения доводят до метки бидистиллированной водой. Измеряют pH и, если необходимо, доводят его до значения 4,8.
1 н. Ацетатно-натриевый буферный раствор с pH 3,5	Уксусная кислота (ГОСТ 61) Натрий уксуснокислый (ГОСТ 199)	60 $см^3$ 82 г	В бидистиллированной воде растворяют натрий уксуснокислый, добавляют уксусную кислоту и доводят бидистиллированной водой до метки. Измеряют pH и, если необходимо, доводят его до значения 3,5.
1М Ацетатно-аммонийный буферный раствор с pH 4,5	Уксусная кислота (ГОСТ 61) Аммиак водный (ГОСТ 3760, 25%-й)	108 $см^3$ 55 $см^3$	В колбу, заполненную бидистиллированной водой на 1/2, добавляют уксусную кислоту и аммиак. После охлаждения доводят до метки бидистиллированной водой. Измеряют pH и, если необходимо, доводят его до значения 4,5.
1М Ацетатно-аммонийный буферный раствор (pH 4,5) с ЭДТА	Уксусная кислота (ГОСТ 61) Аммиак водный (ГОСТ 3760, 25%-й) ЭДТА	108 $см^3$ 55 $см^3$ 10 г	В колбу, заполненную бидистиллированной водой на 1/2, добавляют уксусную кислоту и аммиак. Растворяют ЭДТА и доводят до метки бидистиллированной водой. Измеряют pH и, если необходимо, доводят его до значения 4,5.

органическая фаза не станет совершенно бесцветной. Для очистки этих солей от загрязнения медью в делительную воронку вместимостью 1000 $см^3$ помещают 500 $см^3$ раствора соли, приливают 10 $см^3$ диэтилдитиокарбамата свинца в четыреххлористом углероде (приготовление раствора см. в ПРИЛОЖЕНИИ) и встряхивают в течение 2 – 3 мин.

После разделения фаз отбрасывают нижний слой и очистку повторяют до тех пор, пока органическая фаза не станет совершенно бесцветной. Затем очищенный раствор соли отмывают от следов диэтилдитиокарбамата свинца. Для этого добавляют 10 – 15 $см^3$ четыреххлористого углерода и встряхивают в течение 2 мин. Органическую фазу отбрасывают. Промывку повторяют несколько раз. Очищенный раствор соли фильтруют через бумажный фильтр, отмытый от загрязнений микроэлементами. Раствор хранят не более двух недель.

Фильтры – очищают пятикратной промывкой соляной кислотой квалификации «ос.ч.» или перегнанной и разбавленной в соотношении 1:100 по объему. От кислоты фильтры отмывают бидистиллированной водой и сушат в шкафу при температуре 90 – 95°С.

При определении микроэлементов следует обязательно ставить холостой опыт, проводя его через все стадии анализа.

Определение содержания подвижных форм соединений тяжелых металлов в почве

Подвижные формы соединений *Mn, Zn, Cu, Ni, Cd, Pb, Co* в почвах извлекают ацетатно-аммонийным буферным раствором с pH 4.8. Отношение почвы к раствору 1:10, время взаимодействия 1 ч при взбалтывании на ротаторе или настаивание в течение суток. Метод пригоден для некарбонатных и для карбонатных почв, принят агрохимической службой для оценки обеспеченности почв микроэлементами.

Ход анализа

Пробу почвы массой 5 г, растертой и пропущенной через сито с отверстиями 1 мм, помещают в колбу емкостью 100 $см^3$, приливают 50 $см^3$ ацетатно-аммонийного буферного раствора с pH 4,8. Суспензию взбалтывают 1 ч (или настаивают в течение суток). Полученную суспензию фильтруют через сухой складчатый беззольный фильтр (белая лента) в пробирку, первыми порциями фильтрата споласкивают пробирку, затем они отбрасываются. В полученном фильтрате определяют микроэлементы атомно-абсорбционным методом (см. раздел I, с. 14 – 22). Одновременно ставят холостой опыт, проводя его через все стадии анализа. Определение Co, Cu, Ni в некоторых почвах, а также Pb и Cd почти во всех почвах в ацетатно-аммонийном буферном растворе прямым методом невозможно из-за очень низкого содержания этих элементов. В этих случаях применяют предварительное концентрирование (см. далее).

Аппаратура, реактивы, материалы

1. Ротатор.
2. Колбы конические Эрленмейера объемом 150 см^3.
3. Пробирки градуированные с притертыми пробками по ГОСТ 1770.
4. Воронки лабораторные по ГОСТу 25336.
5. Цилиндры мерные объемом 50 см^3 по ГОСТу 1770.
6. Фильтры беззольные «белая лента».
7. Кислота уксусная, ледяная по ГОСТу, «ос.ч.».
8. Аммиак 25% водный по ГОСТу 3760 «ос.ч.».
9. Буферный раствор ацетат-аммонийный 1 М с pH 4,8. Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

Определение водорастворимых соединений ТМ в почве

Ход анализа

В не загрязненных почвах большинство элементов, переходящих в водные вытяжки невозможно определить атомно-абсорбционным методом без концентрирования. В зависимости от метода концентрирования элементов, навеску почвы, просеянной через сито с отверстиями 1 мм, в количестве 10 – 20 г помещают в колбу объемом 250 см^3. Цилиндром приливают 100 – 200 см^3 бидистиллированной воды и взбалтывают в течение 1 ч на ротаторе. Вытяжку отфильтровывают через специальные ультрапористые фильтры (размер пор 0,1 – 0,25 μ) под разрежением (водоструйный насос). Из незасоленных почв практически не удается получить прозрачные водные вытяжки. Почвенные коллоиды, проходящие через ультрапористые фильтры и вызывающие опалесценцию, могут на несколько порядков исказить данные по содержанию водорастворимых форм Pb, Cd и других металлов. При определении элементов пламенным вариантом атомно-абсорбционного метода необходимо концентрирование экстракционным методом. В сильнозагрязненных почвах некоторые тяжелые металлы можно определить непосредственно в водной вытяжке.

Аппаратура, реактивы, материалы

1. Ротатор.
2. Колбы конические Эрленмейера объемом 250 см^3.
3. Колбы Бунзена на 250 см^3.
4. Воронки Бюхнера.
5. Воронки лабораторные по ГОСТу 25336.
6. Цилиндры мерные объемом 250 см^3 по ГОСТу 1770.
7. Фильтры ультрапористые.
8. Водоструйный насос.

Приготовление растворов для анализа

Определение содержания тяжелых металлов методом пламенной атомной абсорбции производят в растворах, которые иногда следует разбавить или концентрировать.

Разбавление проводится в случае, когда концентрация определяемого элемента в анализируемом растворе превышает концентрацию в наибольшем градуировочном стандартном растворе. Пробы разбавляют раствором 1%-й азотной кислоты. Если разбавление проб проводится не более чем в 10 раз, допускается использование бидистиллированной воды.

Концентрирование проб проводят в случае, если в них концентрация определяемого элемента находится вблизи или ниже предела обнаружения, а необходимо получить точные значения содержания элемента в образцах. Если в приборе отсутствует корректор фонового поглощения, следует концентрировать анализируемые растворы при определении свинца, кадмия, никеля и кобальта.

Концентрирование проводят методом экстракции или методом выпаривания. Во всех операциях по концентрированию участвуют и стандартные растворы с концентрацией определяемого элемента в 2 – 5 раз ниже уровня минимального градуировочного стандартного раствора, а также нулевой стандарт.

Экстракционное концентрирование: в стаканы вместимостью 100 $см^3$ помещают аликвоты испытуемых и стандартных растворов (10 – 50 $см^3$), доводят их объем до 50 $см^3$ 1%-м раствором азотной кислоты, добавляют по 10 $см^3$ лимонной кислоты, по 2 – 3 капли раствора фенолфталеина и приливают по каплям раствор аммиака до появления слаборозовой окраски. Растворы переносят в делительные воронки объемом 100 $см^3$, приливают по 5 $см^3$ раствора диэтилдитиокарбамата натрия и по 5 $см^3$ эфира и встряхивают в течение 1 минуты. Органические экстракты собирают в пробирки и сразу закрывают пробками.

При *концентрировании выпариванием* в стаканы вместимостью 50 $см^3$ помещают аликвоты испытуемых и стандартных растворов (15 – 20 $см^3$), добавляют по 1 $см^3$ азотной кислоты (1 : 1) и нагревают на водяной бане или электроплитке до образования влажных солей, которые растворяют в минимальном объеме 1%-й азотной или соляной кислоты и количественно переносят той же кислотой в мерную пробирку вместимостью 5 – 10 $см^3$.

Аппаратура, реактивы, материалы

1. Пробирки с притертыми пробками объемом 5 и 10 $см^3$ по ГОСТу 1770.
2. Колбы мерные объемом на 25 $см^3$ по ГОСТу 1770.
3. Стаканы объемом 50 и 100 $см^3$ по ГОСТу 25336.
4. Воронка делительная объемом на 100 $см^3$ по ГОСТу 25336.
5. Пипетки объемом 1, 2, 5, 10, 20 и 50 $см^3$ по ГОСТу 20292.
6. Кислота соляная (ГОСТ 14261) «ос.ч.», раствор в бидистиллированной воде с массовой долей 1%.
7. Кислота азотная (ГОСТ 11125) «ос.ч.», раствор в бидистиллированной воде 1:1 по объему.

8. Кислота азотная (ГОСТ 11125) «ос.ч.», раствор в бидистиллированной воде с массовой долей 1%.
9. Аммиак водный (ГОСТ 3760) «х.ч.», раствор с массовой долей 5%.
10. Изоамиловый эфир уксусной кислоты по ТУ 6-09-1240 «ч.» или бутиловый эфир уксусной кислоты по ГОСТу 22300 «ч.».
11. Кислота лимонная по ГОСТу 3652 «х.ч.», раствор в бидистиллированной воде с массовой долей 0,5% (свежеприготовленный).
12. Натрия N,N–диэтилдитиокарбамат по ГОСТу 8864, «ч.д.а.», раствор в бидистиллированной воде с массовой долей 0,5% (свежеприготовленный).
13. Фенолфталеин раствор водно-спиртовой с массовой долей 1%.

Определение содержания цинка в почве атомно-абсорбционным методом

Метод основан на извлечении соединений элемента из почвы и измерении поглощения электромагнитного резонансного излучения свободными атомами цинка.

Содержание подвижного цинка в большинстве используемых вытяжек определяют атомно-абсорбционным методом напрямую в пламени ацетилен – воздух. Техника проведения измерений и подготовки стандартных растворов сравнения приведена в разделе I, на с. 14 – 22. При определении цинка в вытяжке 1 М раствора KCl из-за высокой концентрации соли нарушается нормальное распыление раствора и горение пламени. Для устранения указанного явления необходимо предварительно разбавить вытяжку, использовать трехщелевую горелку на атомно-абсорбционном спектрофотометре и учитывать неселективное поглощение с помощью корректора фона.

Методика определения подвижных соединений цинка, извлекаемых из почвы ацетатно-аммонийным буферным раствором с pH 4,8 и последующим атомно-абсорбционным и фотометрическим дитизоновым окончанием утверждена в качестве Государственного стандарта РФ.

Определение содержания цинка в почве фотометрическим дитизоновым методом

Метод основан на извлечении соединений элемента из почвы, получении окрашенного комплекса цинка с дитизоном, экстрагировании его четыреххлористым углеродом и измерении оптической плотности экстракта. Мешающее влияние меди, железа, свинца, кобальта, никеля и некоторых других тяжелых металлов устраняют добавлением тиосульфата.

При определении цинка в кислых вытяжках, их предварительно нейтрализуют 10%-м раствором аммиака по метиловому красному индикатору до появления желтой окраски.

Ход анализа

Аликвоту вытяжки (20 – 50 $см^3$) переносят в делительную воронку объемом 200 $см^3$, добавляют 10 $см^3$ маскирующего реагента в буферном растворе и тщательно перемешивают. Затем приливают из бюретки или

пипетки 10 см^3 раствора дитизона в CCl_4 и встряхивают воронку 1 мин. После разделения фаз органический слой сливают в кювету с шириной поглощающего слоя 1 см и измеряют оптическую плотность экстракта при 538 нм (зеленый светофильтр) относительно нулевого раствора сравнения.

Калибровочную шкалу готовят в интервале концентраций цинка от 0 (нулевой раствор) до 5 мкг в 10 см^3 CCl_4. Для этого в серию делительных воронок приливают 0,0; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 см^3 стандартного раствора с содержанием цинка 1 мкг/см^3. Доводят объем до 20 – 50 см^3 (в зависимости от аликвоты исследуемого раствора) добавлением раствора, которым происходило извлечение подвижного цинка (1 М KCl, ацетатные буферные растворы и т.д.). Если полученные растворы имеют кислую реакцию, то их нейтрализуют 10%-ным раствором аммиака так же, как и исследуемые вытяжки. Затем в делительные воронки добавляют по 10 см^3 маскирующего реагента в буферном растворе и, тщательно перемешав, приливают по 10 см^3 раствора дитизона в CCl_4. Энергично встряхивают в течение 1 мин. После разделения фаз органический слой отделяют и измеряют оптическую плотность стандартных растворов.

Градуировочный график строят в координатах D – C (значение оптической плотности откладывают на оси ординат, концентрацию цинка в растворе – по оси абсцисс).

Концентрацию цинка в исследуемых растворах находят по градуировочному графику и рассчитывают содержание элемента в почве по формуле

$$Zn,\ мг/кг = \frac{C \cdot V_1}{V_2 \cdot m},$$

где C – концентрация цинка, мкг/10 см^3, найденная по графику;
V_1 – объем исходной вытяжки; V_2 – объем аликвоты; m – навеска почвы

Реактивы

1. Стандартный раствор цинка с содержанием элемента 1 мкг/см^3 (техника приготовления описана в разделе I, с. 18) Для приготовления используют Государственный стандартный образец (ГСО) с концентрацией 1 мг/см^3 Zn или цинк металлический гранулированный (ГОСТ 989).

2. Буферный раствор ацетатный (pH 5.0). Приготовление и определение чистоты реактива см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

3. Натрий серноватистокислый ($Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$) или тиосульфат (ГОСТ 4215), раствор с массовой долей 50%. 50 г реактива растворяют в бидистиллированной воде и доводят объем до 100 см^3. Делают проверку на чистоту, как описано выше.

5. Маскирующий раствор: 500 см^3 ацетатного буферного раствора с pH 5,0 смешивают с 50 см^3 50%-го раствора тиосульфата.

6. Раствор дитизона в четыреххлористом углероде с массовой долей 0.04% (основной). Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

7. Рабочий 0,0012%-й раствор дитизона: 15 см^3 основного 0.04%-го раствора дитизона помещают в мерную колбу объемом 500 см^3 и доливают до метки четыреххлористым углеродом. Готовят день проведения анализа.

Определение содержания цинка фотометрическим дитизоновым методом в ацетатно-аммонийной вытяжке с pH 4,8 в модификации ЦИНАО (ГОСТ Р 50686)

Ход анализа

Для некарбонатных почв

В делительные воронки вместимостью 100 см^3 помещают по 20 см^3 вытяжек, контрольного (холостого) раствора и растворов сравнения, приливают к ним по 10 см^3 маскирующего раствора, перемешивают, приливают по 10 см^3 рабочего раствора дитизона и встряхивают в течение 1 мин.

После разделения фаз сливают нижний слой в кювету фотоэлектроколориметра с толщиной просвечивающего слоя 1 см и фотометрируют при длине волны 538 нм или при светофильтре с максимумом пропускания в области 520 – 550 нм.

Приготовление растворов сравнения: в мерные колбы вместимостью 50 см^3 из бюретки вместимостью 5 см^3 наливают 0; 0,5; 1,0, 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 см^3 стандартного раствора с массовой концентрацией цинка 5 мкг/см^3 и доливают до метки экстрагирующим раствором (ацетатно-аммонийным буферным с pH 4,8). Растворы готовят в день проведения анализа.

По растворам сравнения строят градуировочный график в координатах D–C , где D – оптическая плотность (по оси ординат), а C – концентрация цинка в растворе (по оси абсцисс).

Для карбонатных и органогенных почв

В стаканы помещают по 20 см^3 вытяжек контрольного (холостого) раствора, приливают по 5 см^3 азотной кислоты, разбавленной 1:1, по 2 см^3 пероксида водорода и выпаривают до влажных солей. Обработку осадков повторяют до тех пор, пока их окраска станет светло-желтой. После последней обработки растворы выпаривают досуха, приливают по 10 см^3 соляной кислоты, разбавленной 1:100, и растворяют осадки при нагревании. Растворы переносят в делительные воронки, обмывая стаканы 1–2 см^3 воды. Одновременно в такие же делительные воронки помещают по 10 см^3 растворов сравнения. К анализируемым растворам и стандартным растворам сравнения приливают по 5 см^3 маскирующего раствора, перемешивают, приливают по 10 см^3 рабочего раствора дитизона и далее проводят анализ, как описано выше. По растворам сравнения строят градуировочный график в координатах D–C .

Приготовление растворов сравнения: в мерные колбы вместимостью 50 см^3 из бюретки вместимостью 5 см^3 наливают 0; 0.5; 1.0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 см^3 стандартного раствора с массовой концентрацией цинка 10 мкг/см^3 и доливают до метки соляной кислотой, разбавленной 1:100. Растворы готовят в день проведения анализа.

Массовую долю подвижных соединений цинка в почве X, млн.$^{-1}$, вычисляют по формуле: $X = Kc - c_1$,

где K – коэффициент, учитывающий разбавление вытяжки; c – массовая концентрация цинка в почвенной вытяжке в пересчете на массовую долю в почве, найденная по графику, млн.$^{-1}$, c_1 – массовая концентрация цинка в контрольном растворе в пересчете на массовую долю в почве, найденная по графику, млн.$^{-1}$.

Реактивы, в дополнение к перечисленным на с. 243.

1. Аммиак водный (ГОСТ 3760 «х.ч.»), раствор в бидистиллированной воде с массовой долей 10%; и с массовой долей 0,1%;
2. Кислота серная (ГОСТ 4204 «х.ч.»), раствор в бидистиллир. воде 1:5 по объему;
3. Метиловый красный спиртовой раствор с массовой долей 0,1%.
4. Вода бидистиллированная.
5. Перекись водорода по ГОСТу 10929 «х.ч.».

Аппаратура и материалы

1. Спектрофотометр, спектроколориметр или ФЭК.
2. Колбы мерные объемом 100, 500 и 1000 см^3 по ГОСТу 1770.
3. Воронки делительные объемом 200 см^3 по ГОСТу 25336.
4. Пипетки объемом 1, 2, 5, 10, 20 и 50 см^3 по ГОСТу 20292.
5. Цилиндры мерные объемом на 25, 50 и 100 см^3 по ГОСТу 1770.

Определение содержания меди в почве атомно-абсорбционным методом

Метод основан на извлечении из почвы соединений элемента и измерении поглощения электромагнитного резонансного излучения свободными атомами меди.

Содержание подвижной меди в большинстве используемых вытяжек определяют атомно-абсорбционным методом напрямую в пламени ацетилен–воздух. Техника проведения измерений и подготовки стандартных растворов сравнения приведена в разделе I на с. 14 – 22.

Методика определения подвижных соединений меди, извлекаемых из почвы ацетатно-аммонийным буферным раствором с pH 4,8 (по Крупскому и Александровой), а так же 1 М раствором соляной кислоты (по Пейве-Ринькису) и последующим атомно-абсорбционным (прямым и экстракционным) и фотометрическим (с диэтилдитиокарбаматом свинца) окончанием утверждена в качестве Государственного стандарта РФ.

Экстракционно-атомно-абсорбционное определение содержания меди в почвенной вытяжке ацетатно-аммонийного буферного раствора с pH 4,8

Ход анализа

В делительные воронки вместимостью 250 см^3 помещают по 100 см^3 почвенных вытяжек, контрольного (холостого) раствора и растворов сравнения, приливают к ним по 10 см^3 раствора диэтилдитио-

карбамата натрия, по 5 см^3 бутилового или *изо*-амилового эфира уксусной кислоты и встряхивают в течение 1 мин. После разделения фаз нижний водный слой отбрасывают, а органические экстракты собирают в сухие пробирки с пришлифованными пробками.

Для промывки распылителя и горелки в пламя вводят эфир. Расход горючего газа (ацетилена) и воздуха регулируют таким образом, чтобы при распылении эфира пламя имело четко очерченный внутренний конус и не гасло при прекращении поступления эфира.

Реактивы

1. Диэтилдитиокарбамат натрия (ГОСТ 8864) с массовой долей 0,5% – 0,5 г реактива растворяют в 100 см^3 бидистиллированной воды. Раствор готовят в день проведения анализа.
2. Техника приготовления растворов сравнения меди приведена на с. 18.
3. Бутиловый эфир уксусной кислоты или *изо*-амиловый эфир уксусной кислоты (ГОСТ 22300).

Аппаратура и материалы (в дополнение к приведенным на с. 22).

1. Воронки делительные объемом 250 см^3 (ГОСТ 25336).
2. Пипетки объемом 5, 10, 100 см^3 (ГОСТ 20292).
3. Пробирки с пришлифованными пробками (ГОСТ 1770).

Определение содержания меди в почве фотометрическим методом с использованием диэтилдитиокарбамата свинца

Метод основан на извлечении из почвы соединений элемента, получении окрашенного комплекса меди с диэтилдитиокарбаматом свинца, экстракции его четыреххлористым углеродом и измерении оптической плотности экстракта.

Ход анализа

Аликвоту 20 – 50 см^3 исследуемой почвенной вытяжки помещают в делительную воронку, добавляют 5 см^3 5%-го раствора лимонно-кислого аммония, 1–2 капли индикатора фенолфталеина и нейтрализуют разбавленным раствором аммиака до слабо-розовой окраски. Затем из бюретки приливают 15 см^3 раствора диэтилдитиокарбамата свинца в четыреххлористом углероде и энергично встряхивают в течение 2 мин. После разделения фаз нижний (органический) слой сливают в пробирку с притертой пробкой или непосредственно в кювету с толщиной просвечивающего слоя 2 см. Фотометрируют экстракт при длине волны 436 нм (синий светофильтр) относительно четыреххлористого углерода.

Если исследуемая вытяжка исходно окрашена (торфяные или другие почвы с высоким содержанием органических веществ), то в ней предварительно разрушают органическое вещество. Для этого 20 – 50 см^3 исследуемой почвенной вытяжки помещают в стакан из термостойкого стекла, добавляют 2 см^3 концентрированной соляной кислоты и 2 см^3 концентрированной перекиси водорода. Содержимое упаривают на

водяной бане до получения влажных солей. Обработку остатка повторяют до тех пор, пока окраска не станет светло-желтой. Полученный остаток растворяют при нагревании в 10 $см^3$ разбавленной соляной кислоты. Раствор переносят в делительную воронку, добавляют 5 $см^3$ 5%-го раствора лимоннокислого аммония, нейтрализуют разбавленным раствором аммиака до появления слабо-розовой окраски по фенолфталеину и далее анализ проводят, как описано выше.

Калибровочную шкалу готовят в интервале концентраций меди от 0 (нулевой раствор) до 2 мкг в 15 $см^3$ CCl_4. Для этого в серию делительных воронок приливают 0,0; 0,25; 0,5; 1,0; 2,0 $см^3$ стандартного раствора с содержанием меди 1 мкг/$см^3$. Доводят объем до 20–50 $см^3$ (в зависимости от взятого объема исследуемой вытяжки) добавлением раствора, которым происходило извлечение подвижной меди (1 М HCl, ацетатные буферные растворы и т.д.). Затем в делительные воронки добавляют по 5 см 5%-ного раствора лимоннокислого аммония, 1–2 капли индикатора фенолфталеина и нейтрализуют разбавленным раствором аммиака до слабо-розовой окраски. Из бюретки, приливают по 15 $см^3$ раствора диэтилдитиокарбамата свинца в CCl_4. Энергично встряхивают в течение 2 мин. После разделения фаз органический слой отделяют и измеряют оптическую плотность стандартных растворов.

Градуировочный график строят в координатах D – C (значение оптической плотности откладывают на оси ординат, концентрацию меди в растворе – на оси абсцисс).

Концентрацию меди в исследуемых растворах находят по градуировочному графику и рассчитывают содержание элемента в почве по формуле

$$Cu,\ мг/кг = \frac{C \cdot V_1}{V_2 \cdot m},$$

где C – концентрация меди, мкг/15 $см^3$, найденная по графику; V_1 – объем исходной вытяжки; V_2 – объем аликвоты; m – навеска почвы.

Реактивы

1. Стандартный раствор меди с содержанием элемента 1 мкг/$см^3$ (техника приготовления описана на с. 18. Используют Государственный стандартный образец (ГСО) с концентрацией 1 мг/$см^3$ Cu или медь азотнокислую трехводную «х.ч.», ТУ 6-09-3757-74.
2. Раствор аммония лимоннокислого (трехзамещенного) с массовой долей 5%. Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.
3. Раствор диэтилдитиокарбамата свинца в четыреххлористом углероде. Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.
10. Аммиак водный (ГОСТ 3760 «х.ч.»), раствор в бидистиллированной воде с массовой долей 10%.
11. Кислота соляная (ГОСТ 14261 ос.ч).
12. Кислота соляная (ГОСТ 14261 «ос.ч.»), раствор в бидистиллированной воде в соотношении 1:100 по объему.
13. Перекись водорода (ГОСТ 10929 «х.ч.»).

14. Фенолфталеин ТУ 6-09-05-629-77, спиртовой раствор с массовой долей 0,1%.
15. Вода бидистиллированная.

Аппаратура и материалы

1. Спектрофотометр, спектроколориметр или ФЭК.
2. Цилиндры мерные объемом на 5, 50 и 500 см^3 по ГОСТу 1770.
3. Колбы мерные объемом 100 см^3, 1000 см^3 по ГОСТу 1770.
4. Воронки делительные объемом 200 и 1000 см^3 по ГОСТу 25336.
5. Пипетки объемом 1, 2, 20, 50 см^3 по ГОСТу 20292.
6. Пробирки с притертыми пробками по ГОСТу 1770.
7. Бюретка объемом 50 см^3 по ГОСТу 20292.
8. Стаканы объемом 100 или 200 см^3 по ГОСТу 25336.

Определение содержания подвижных соединений меди по методу Крупского и Александровой (в ацетатно-аммонийной вытяжке с pH 4,8) с фотометрическим окончанием в модификации ЦИНАО (ГОСТ Р 50683)

Ход анализа

В делительные воронки вместимостью 100 см^3 помещают по 50 см^3 вытяжек, контрольного (холостого) раствора и стандартных растворов сравнения, приливают по 5 см^3 раствора лимоннокислого натрия, по 5 см^3 раствора диэтилдитиокарбамата свинца в четыреххлористом углероде и встряхивают воронки в течение 2 мин.

После разделения фаз сливают нижний органический слой в кювету с просвечивающим слоем 1–2 см и фотометрируют относительно четыреххлористого углерода при длине волны 436 нм или используют светофильтр с максимумом пропускания 420 – 450 нм.

Градуировочный график строят по растворам сравнения в координатах D–C , где D – оптическая плотность раствора (по оси ординат), а C – концентрация меди в растворе (по оси абсцисс).

Массовую долю подвижных соединений меди в почве X, млн.$^{-1}$, вычисляют по формуле: $X = Kc - c_1$,

где K – коэффициент, учитывающий разбавление вытяжки; c – массовая концентрация меди в почвенной вытяжке в пересчете на массовую долю в почве, найденная по графику, млн.$^{-1}$, c_1 – массовая концентрация меди в контрольном растворе в пересчете на массовую долю в почве, найденная по графику, млн.$^{-1}$.

Реактивы

1. Стандартный раствор меди с содержанием элемента 4 мкг/см^3: в мерную колбу вместимостью 50 см^3 помещают 2 см^3 раствора с массовой концентрацией меди 100 мкг/см^3 и доливают до метки экстрагирующим раствором. Раствор готовят в день выполнения анализа (техника приготовления стандартного раствора с концентрацией меди 100 мкг/см^3 описана на с. 18).
2. Растворы сравнения: в мерные колбы вместимостью 100 см^3 из бюретки вместимостью 5 см^3 наливают 0; 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 см^3 раствора с массовой концентрацией меди 4 мкг/см^3 и доливают до метки экстрагирующим раствором. Растворы готовят в день проведения анализа.

3. Натрий лимоннокислый, раствор с массовой долей 10%: 100 г реактива растворяют в бидистиллированной воде и доводят объем до 1000 $см^3$. Полученный раствор очищают от следов меди (см. с. 234 – 238);

4. Раствор диэтилдитиокарбамата свинца в четыреххлористом углероде. Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

Определение содержания подвижных соединений меди по методу Пейве и Ринькиса (в вытяжке 1 М HCl) в модификации ЦИНАО (ГОСТ Р 50684)

Ход анализа

Для минеральных почв. В делительные воронки вместимостью 50 $см^3$ помещают по 10 $см^3$ вытяжек, контрольного (холостого) раствора, стандартных растворов сравнения, приливают к ним по 10 $см^3$ маскирующего раствора и содержимое воронок перемешивают. Далее так же, как в ходе анализа по ГОСТу 50683.

Для органогенных почв. В стаканы помещают по 10 $см^3$ почвенных вытяжек, контрольного раствора, приливают по 5 $см^3$ азотной кислоты, разбавленной 1:1, по 2 $см^3$ пероксида водорода и выпаривают на водяной бане до влажных солей. Обработку осадков повторяют до тех пор, пока их окраска станет светло-желтой. Остатки растворяют при нагревании в 10 $см^3$ экстрагирующего раствора и полученные растворы переносят в делительные воронки вместимостью 50 $см^3$. Одновременно в другие делительные воронки помещают по 10 $см^3$ стандартных растворов сравнения. Далее анализ проводят как описано выше (для минеральных почв).

Реактивы (в дополнение к перечисленным выше, в методике ГОСТ 50683, с. 247–248).

1. Раствор уксуснокислого натрия с массовой долей 20% Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ. Полученный раствор очищают от меди (см. с. 234 – 238) и хранят в холодильнике не более 1 мес.
2. Государственный стандартный образец (ГСО) с концентрацией 1 $мг/см^3$ Cu или медь азотнокислая трехводная «х.ч.», ТУ 6-09-3757-74.
3. Растворы сравнения – в мерные колбы вместимостью 50 $см^3$ наливают 0, 0,5, 1,0, 2,0, 3,0, 4,0, 5,0 $см^3$ раствора с массовой концентрацией меди 10 $мкг/см^3$ и доливают до метки экстрагирующим раствором. Растворы готовят в день проведения анализа.
4. Маскирующий раствор – растворы лимоннокислого натрия и уксуснокислого натрия смешивают 1:3 по объему и хранят в холодильнике не более 1 мес.
5. Аммиак водный (ГОСТ 3760) «х.ч.», раствор в бидистиллированной воде с массовой долей 10%.
6. Кислота соляная (ГОСТ 14261) «ос.ч.» и раствор в бидистиллированной воде в соотношении 1:100 по объему.
7. Перекись водорода (ГОСТ 10929) «х.ч.».
8. Фенолфталеин ТУ 6-09-05-629-77, спиртовой раствор с массовой долей 0,1%.
9. Вода бидистиллированная.
10. Кислота азотная (ГОСТ 4461) «х.ч.», раствор в бидистиллированной воде в соотношении 1:1 по объему.

Аппаратура и материалы

1. Спектрофотометр, спектроколориметр или ФЭК.
2. Колбы мерные объемом 50 $см^3$,100 $см^3$, 1000 $см^3$ по ГОСТу 1770.
3. Воронки делительные объемом 50, 200 и 1000 $см^3$ по ГОСТу 25336.
4. Пипетки объемом 1, 2, 20 $см^3$ по ГОСТу 20292.
5. Бюретки объемом 5 см и 50 $см^3$ по ГОСТу 20292;
6. Цилиндры мерные объемом на 5, 50 и 500 $см^3$ по ГОСТу 1770.
7. Стаканы объемом 100 или 200 см по ГОСТу 25336.
8. Пробирки с притертыми пробками по ГОСТу 1770.

Определение содержания марганца в почве атомно-абсорбционным методом

Метод основан на извлечении соединений элемента из почвы и измерении поглощения электромагнитного резонансного излучения свободными атомами марганца.

Содержание подвижного марганца в большинстве используемых вытяжек определяют атомно-абсорбционным методом напрямую в пламени ацетилен – воздух. Техника проведения измерений и подготовки стандартных растворов сравнения приведена на с. 14 – 22.

Методика определения подвижных соединений марганца, извлекаемых из почвы ацетатно-аммонийным буферным раствором с pH 4,8 (по Крупскому и Александровой), а также 0,1 М раствором 1/2 H_2SO_4 (по Пейве-Ринькису) и последующим атомно-абсорбционным и фотометрическим (с формальдоксимом) окончанием утверждена в качестве Государственного стандарта РФ.

При определении марганца по Крупскому и Александровой из карбонатных почв по стандартизованной методике на каждые 10 $см^3$ почвенной вытяжки, контрольного раствора и растворов сравнения добавляют по 1 капле насыщенного раствора хлористого стронция.

Приготовление насыщенного раствора хлористого стронция – 100 г стронция хлористого шестиводного (по ГОСТу 4140) растворяют при нагревании в 100 $см^3$ дистиллированной воды.

Определение содержания марганца в почве фотометрическим методом с использованием персульфата аммония

Метод основан на извлечении соединений элемента из почвы, окислении марганца до марганцовой кислоты персульфатом аммония в присутствии азотнокислого серебра в качестве катализатора и измерении оптической плотности окрашенного в розово-фиолетовый цвет раствора. Мешающее влияние хлоридов устраняют выпариванием анализируемой вытяжки досуха с азотной и серной кислотами. С помощью фосфорной кислоты мешающее определению железо связывается в бесцветный комплекс.

Ход анализа

Аликвоту вытяжки 10 – 15 $см^3$ помещают в термостойкий стакан объемом 50 $см^3$, прибавляют 5 $см^3$ концентрированной азотной кислоты, 2 $см^3$ 30%-й перекиси водорода и выпаривают на плитке досуха. Операцию окисления повторяют еще 2 – 3 раза. Затем добавляют 3 $см^3$ только концентрированной азотной кислоты и снова выпаривают досуха. К сухому остатку добавляют 25 $см^3$ 10%-й серной кислоты и нагревают на плитке до его полного растворения.

Затем добавляют 15 $см^3$ бидистиллированной воды, 2 $см^3$ концентрированной ортофосфорной кислоты, 2 $см^3$ 1%-го раствора азотнокислого серебра и нагревают 5 – 10 мин. Если раствор помутнеет, то его следует довести до кипения и профильтровать через фильтр «синяя лента». К прозрачному горячему раствору в стакане прибавляют небольшими порциями 2 г персульфата аммония (не допуская вспенивания раствора), осторожно перемешивают стеклянной палочкой. После добавления каждой порции окислителя продолжают нагревание почти до кипения.

После появления устойчивой розово-фиолетовой окраски и прекращения выделения пузырьков озона раствор кипятят еще 1 – 2 мин. После охлаждения раствор переносят в мерную колбу объемом 50 $см^3$ и доливают бидистиллированной водой до метки. Фотометрируют раствор в кювете с толщиной просвечивающего слоя 1 или 2 см, при длине волны 528 – 536 нм или зеленом светофильтре относительно нулевого раствора сравнения.

Калибровочную шкалу готовят в интервале концентраций от 0 до 250 мкг в 50 $см^3$ или от 0 до 5,0 мкг/$см^3$. Для этого в серию стаканов объемом 100 $см^3$ помещают 0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 $см^3$ стандартного раствора сравнения с содержанием 100 мкг/$см^3$ марганца, добавляют по 25 $см^3$ 10%-й серной кислоты и уравнивают объемы растворов до 40 $см^3$ бидистиллированной водой. Затем добавляют по 2 $см^3$ концентрированной ортофосфорной кислоты, 2 $см^3$ 1%-го раствора азотнокислого серебра и нагревают до 80 – 90°С 5 – 10 мин. Далее проводят все операции, как указано выше для анализируемых растворов.

Градуировочный график строят в координатах D – C (значение оптической плотности откладывают на оси ординат, концентрацию марганца в растворе – на оси абсцисс.

Содержание марганца в мг/кг почвы вычисляют по формуле

$$Mn = \frac{C \cdot V_1}{V_2 \cdot m},$$

где C – концентрация марганца, мкг/50 $см^3$, найденная по графику; V_1 – объем исходной вытяжки; V_2 – объем аликвоты; m – навеска почвы.

Реактивы

1. Стандартный раствор марганца с содержанием элемента 100 мкг/$см^3$ (техника приготовления описана на с. 18). Используют Государственный стандартный

образец (ГСО) с содержанием марганца 1 мг/см^3 или марганец сернокислый пятиводный (ГОСТ 435).
2. Перекись водорода (ГОСТ 10929) «х.ч.»
3. Кислота азотная (ГОСТ 4461) «х.ч.».
4. Кислота серная (ГОСТ 4204) «х.ч.».
5. Ортофосфорная кислота (ГОСТ 6552) «ч.д.а.».
6. Кислота серная (ГОСТ 4204) «х.ч.», раствор в бидистиллированной воде с массовой долей 10%.
7. Серебро азотнокислое (ГОСТ 1277) «х.ч.», раствор в бидистиллированной воде с массовой долей 1%.
8. Аммоний надсернокислый (персульфат ГОСТ 20478) «ч.д.а.».
9. Вода бидистиллированная.

Аппаратура и материалы
1. Спектрофотометр, спектроколориметр или ФЭК.
2. Электроплитка бытовая по ГОСТу 1419.
3. Баня водяная лабораторная.
4. Воронки лабораторные.
6. Стаканы объемом 100 см^3 по ГОСТу 25336.
7. Пипетки объемом 1,0, 2,0, 5, 10 и 20 см^3 по ГОСТу 20292.
8. Цилиндр мерный объемом 5, 20, 25 см^3 по ГОСТу 1770.
9. Колбы мерные объемом 50, 1000 см^3 по ГОСТу 1770.
10. Стеклянные палочки.

Определение содержания марганца в почве фотометрическим методом с использованием формальдоксима в модификации ЦИНАО (ГОСТ Р 50682)

Метод основан на извлечении соединений элемента из почвы, получении окрашенного комплекса марганца с формальдоксимом (красновато-коричневого цвета) и измерении оптической плотности раствора. Окрашенный комплекс марганца образуется в щелочной среде, которую создают с помощью аммиачного буферного раствора. Для разрушения комплексов железа, меди, никеля, кобальта с формальдоксимом и удержании названных элементов в растворе (чтобы избежать соосаждения марганца) добавляют аскорбиновую кислоту и трилон Б.

Ход анализа

Для минеральных почв. Аликвоту 5 см^3 почвенной вытяжки, приготовленной по методу Пейве-Ринькиса, помещают в сухую коническую колбу объемом 100 см^3. Добавляют 10 см^3 рабочего раствора формальдоксима и 30 см^3 рабочего аммиачного буферного раствора. После добавления каждого реактива тщательно перемешивают содержимое колбы. Затем колбу оставляют на 5 мин. для полного развития окраски комплекса марганца с формальдоксимом. После этого приливают 5 см^3 маскирующего раствора, перемешивают и оставляют на 10 мин для разрушения комплекса формальдоксима с железом. Раствор фотометрируют не позже чем через 30 мин после добавления маскирующего реагента (окраска

комплекса с течением времени ослабляется) в кювете с толщиной просвечивающего слоя 1 см относительно дистиллированной воды при длине волны 490 нм (сине-зеленый светофильтр).

Для органогенных почв. В стаканы помещают по 5 $см^3$ вытяжек, извлеченных по методу Пейве-Ринькиса, контрольного раствора, приливают по 5 $см^3$ азотной кислоты, разбавленной 1:1, по 2 $см^3$ пероксида водорода и выпаривают до влажных солей. Повторяют обработку остатков азотной кислотой и пероксидом водорода до тех пор, пока их окраска станет светло-желтой. Остатки растворяют при нагревании в 5 $см^3$ экстрагирующего раствора. Одновременно в другие сухие стаканы помещают по 5 $см^3$ растворов сравнения и далее проводят анализ как для минеральных почв.

Калибровочную шкалу готовят в интервале концентраций марганца от 0 до 16 мкг/$см^3$ или от 0 до 800 мкг/50 $см^3$. Для этого в мерные колбы объемом 50 $см^3$ помещают 0,5; 1,0; 2,0; 4,0; 6,0 и 8,0 $см^3$ стандартного раствора с содержанием 100 мкг/$см^3$ марганца. Объем доводят до метки 0,1 н. раствором серной кислоты.

Градуировочный график строят в координатах D – C (значение оптической плотности откладывают на оси ординат, концентрацию марганца в растворе – на оси абсцисс.

Содержание марганца в почве вычисляют по формуле $X = Kc - c_1$,
где K – коэффициент, учитывающий разбавление вытяжки; c – массовая концентрация марганца в почвенной вытяжке в пересчете на массовую долю в почве, найденная по графику, млн.$^{-1}$, c_1 – массовая концентрация марганца в контрольном растворе в пересчете на массовую долю в почве, найденная по графику, млн.$^{-1}$.

Реактивы

1. Стандартный раствор марганца с содержанием элемента 100 мкг/$см^3$ (приготовление см. на с. 18).
2. Раствор формальдоксима (основной). Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.
3. Рабочий раствор формальдоксима готовят в день проведения анализа. Для этого в мерную колбу объемом 500 $см^3$ помещают 100 $см^3$ основного раствора формальдоксима и доводят объем до метки дистиллированной водой.
4. Аммиачный буферный раствор (запасной) – 68 г хлористого аммония (ГОСТ 3773 «ч.д.а.») растворяют в 570 $см^3$ 25%-го раствора аммиака (ГОСТ 3760 «х.ч.») и доводят дистиллированной водой до объема 1000 $см^3$.
5. Рабочий аммиачный буферный раствор – 100 $см^3$ запасного аммиачного буферного раствора помещают в мерную колбу объемом 1000 $см^3$ и доводят до метки дистиллированной водой.
6. Раствор трилона Б с массовой долей 3%. Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.
7. Маскирующий раствор готовят в день проведения анализа. 4 г аскорбиновой кислоты (ГОСТ 4815) растворяют в 500 $см^3$ 3%-го раствора трилона Б.
8. Вода дистиллированная.
9. Перекись водорода (ГОСТ 10929) «х.ч.»
10. Кислота азотная (ГОСТ 4461) «х.ч.», раствор в бидистиллированной воде в соотношении 1:1 по объему.

Аппаратура и материалы

1. Спектрофотометр, спектроколориметр или ФЭК.
2. Колбы конические объемом 100 $см^3$ по ГОСТу 25336.
3. Пипетки объемом 1, 2, 5, 10 и 20 $см^3$ по ГОСТу 20292.
4. Цилиндр мерный объемом 50 $см^3$ по ГОСТу 1770.
5. Колбы мерные объемом 50, 500 и 1000 $см^3$ по ГОСТу 1770.

Определение содержания подвижных соединений марганца по методу Крупского и Александровой (в ацетатно-аммонийной вытяжке с pH 4,8) в модификации ЦИНАО (ГОСТ Р 50685)

Ход анализа

В сухие конические колбы вместимостью 100 $см^3$ помещают по 25 $см^3$ почвенных вытяжек, контрольного раствора (холостого), растворов сравнения, приливают по 5 $см^3$ раствора аскорбиновой кислоты, 5 $см^3$ раствора формальдоксима и по 15 $см^3$ разбавленного раствора аммиака, перемешивая содержимое колб после прибавления каждого реактива.

Полученные растворы не ранее чем через 2 мин и не позднее чем через 20 мин после прибавления аммиака фотометрируют в кювете с просвечивающим слоем 1 см относительно воды при длине волны 490 нм или используют светофильтр с максимумом пропускания в области 450 – 500 нм. Если значение оптической плотности анализируемого раствора превышает значение оптической плотности последнего раствора сравнения, вытяжку разбавляют экстрагирующим раствором и повторяют определение.

Градуировочный график строят по результатам измерения растворов сравнения в координатах D–C, где D – значение оптической плотности (по оси ординат), C – концентрация марганца в растворах (по оси абсцисс).

Массовую долю подвижных соединений марганца в почве вычисляют по формуле на с. 252.

Реактивы

1. Растворы сравнения – в мерные колбы вместимостью 100 $см^3$ наливают 0, 1, 2, 4, 6, 8, 10 $см^3$ раствора с массовой концентрацией марганца 100 мкг/$см^3$ и доливают до метки экстрагирующим раствором. Растворы готовят в день проведения анализа.
2. Стандартный раствор марганца массовой концентрации 100 мкг в 1 $см^3$ – в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 10 $см^3$ раствора с концентрацией 1 мг/$см^3$ и доливают до метки экстрагирующим раствором. Раствор хранят в течение 3 мес.
3. Раствор формальдоксима – 12 г гидроксиламина гидрохлорида растворяют примерно в 70 $см^3$ дистиллированной воды, прибавляют 6 $см^3$ формалина и доводят до 100 $см^3$ водой. Раствор готовят в день анализа.
4. Раствор аскорбиновой кислоты – 4 г аскорбиновой кислоты растворяют в дистиллированной воде и доводят объем до 100 $см^3$. Раствор готовят в день проведения анализа.
5. Аммиак водный по ГОСТ 3760 «х.ч.», разбавленный дистиллированной водой 1:1 по объему.

Аппаратура и материалы (в дополнение к приведенным на с. 253):
1. Пипетки объемом 25 $см^3$ по ГОСТу 20292.
2. Колбы мерные объемом 100 $см^3$ по ГОСТу 1770.
4. Цилиндр мерный объемом 20 $см^3$ по ГОСТу 1770.

Определение содержания кобальта в почве атомно-абсорбционным методом

Метод основан на извлечении из почвы соединений элемента и измерении поглощения электромагнитного резонансного излучения свободными атомами кобальта.

Содержание подвижного кобальта в используемых вытяжках можно определять атомно-абсорбционным методом напрямую в пламени ацетилен – воздух. Техника проведения измерений и подготовки стандартных растворов сравнения приведена в разделе I на стр. 14 – 22. Однако с целью повышения чувствительности определения и устранения мешающего влияния матрицы предварительно проводят экстракционное концентрирование элемента. Для получения устойчивого комплекса кобальта наиболее часто используют 2-нитрозо-1-нафтол, экстрагируют соединение *изо*-амиловым эфиром уксусной кислоты и в экстракте проводят определение кобальта атомно-абсорбционным методом.

Методика определения подвижных соединений кобальта, извлекаемых из почвы ацетатно-аммонийным буферным раствором с pH 4,8 (по Крупскому и Александровой), а также 1 М раствором азотной кислоты (по Пейве-Ринькису) и последующим атомно-абсорбционным и фотометрическим [с нитрозо-Р-солью и с 1-(2-пиридилазо)-2-нафтолом (ПАН) окончанием] утверждена в качестве Государственного стандарта РФ.

В стандартной методике экстракционно-атомно-абсорбционное определение кобальта в вытяжке из почвы по Крупскому и Александровой проводят так же, как и меди (см. с. 245, 248).

В вытяжке из почвы по Пейве-Ринькису стандартная методика предусматривает экстракционно-атомно-абсорбционное определение кобальта с использованием 2-нитрозо-1-нафтола.

Ход анализа

25 $см^3$ вытяжки из почвы или стандартного раствора сравнения помещают в делительную воронку объемом 100 $см^3$, добавляют 25 $см^3$ маскирующего раствора и 2 $см^3$ раствора 2-нитрозо-1-нафтола. После добавления каждого реагента содержимое воронки тщательно перемешивают. Воронку с содержимым оставляют на 1,5 ч. Затем добавляют 5 $см^3$ изоамилацетата и в течение 1 мин энергично встряхивают. После разделения фаз водный нижний слой отбрасывают, а экстракт сливают в пробирку с притертой пробкой. Техника проведения измерений приведена в разделе I на с. 14 – 22.

Реактивы

1. Маскирующий раствор готовят в день проведения анализа. В мерную колбу объемом 1000 см^3 помещают 400 см^3 40%-го раствора лимоннокислого натрия, 400 см^3 40%-го раствора уксуснокислого натрия и 40 см^3 концентрированного раствора перекиси водорода. Объем до метки доводят дистиллированной водой.
2. Стандартные растворы сравнения кобальта с содержанием элемента 0,1 – 5 мкг в 1 см^3 (техника приготовления описана в разделе I на с. 19. Для приготовления используют ГСО с содержанием кобальта 1 мг/см^3 или кобальт сернокислый (ГОСТ 4462);
3. 2-нитрозо-1-нафтол МРТУ 6-09-5829, «ч.д.а.», раствор в дистиллированной воде с массовой долей 0,1%;
4. Натрий лимоннокислый трехзамещенный (ГОСТ 3161, «ч.д.а.»), раствор в дистиллированной воде с массовой долей 40%;
5. Натрий уксуснокислый (ГОСТ 199, «ч.д.а.»), раствор в дистиллированной воде с массовой долей 40%;
6. Перекись водорода (ГОСТ 10929);
7. Изоамиловый эфир уксусной кислоты (изоамилацетат) (МРТУ 6-09-2071);
8. Дистиллированная вода.

Аппаратура и материалы.

1. Атомно-абсорбционный спектрофотометр.
2. Компрессор.
3. Воронки делительные объемом 100 см^3 по ГОСТу 25336.
4. Колбы мерные объемом 100, 1000 см^3 по ГОСТу 1770.
5. Пипетки объемом 1, 2 и 25 см^3 по ГОСТу 20292.
6. Пробирки с притертыми пробками по ГОСТу 1770.
7. Цилиндры мерные объемом 50 и 500 см^3 по ГОСТу 1770.

Определение содержания кобальта в почве фотометрическим методом с использованием 2-нитрозо-1-нафтола

Метод основан на извлечении из почвы соединений элемента, получении окрашенного комплекса кобальта с 2-нитрозо-1-нафтолом и измерении оптической плотности раствора. Окрашенные органические вещества в вытяжке разрушают в процессе выпаривания с окислителями. С помощью цитрата устраняют мешающее влияние двухвалентного железа. Окрашенные соединения трехвалентного железа и меди с 2-нитрозо-1-нафтолом разрушают смесью азотной и фосфорной кислот.

Ход анализа

Аликвоту 50 – 100 см^3 вытяжки помещают в термостойкий стакан, приливают 2 см^3 концентрированной азотной кислоты и 2 см^3 концентрированной перекиси водорода. Содержимое упаривают на песчаной бане или закрытой электроплитке досуха. Обработку повторяют. К осадку приливают 6 см^3 разбавленной соляной кислоты, доводят раствор до кипения, добавляют 2 см^3 маскирующего раствора и кипятят 1 мин.

Реакция раствора должна быть в пределах от 5,6 до 6,0. При необходимости ее корректируют с помощью раствора уксуснокислого натрия.

Затем приливают 1 см^3 0,1%-го раствора 2-нитрозо-1-нафтола, 5 см^3 дистиллированной воды и доводят до кипения. После охлаждения анализируемого раствора в стакан добавляют 3 см^3 смеси азотной и фосфорной кислот и сразу же перемешивают. Содержимое переносят в градуированные пробирки объемом 20 см^3 и доводят до метки дистиллированной водой. Фотометрируют растворы относительно дистиллированной воды в кюветах с толщиной просвечивающего слоя 2 см при длине волны 520 нм (зеленый светофильтр).

Калибровочную шкалу строят в интервале концентраций от 0 до 2,0 мкг/см^3. Для этого в мерные колбы объемом 25 см^3 помещают 0; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 10,0 см^3 стандартного раствора сравнения с содержанием кобальта 10 мкг/см^3 и доводят до метки разбавленной соляной кислотой. Из приготовленной шкалы стандартных растворов сравнения берут по 10 см^3, помещают в стаканы, приливают по 2 см^3 маскирующего раствора, по 1 см^3 0,1%-го раствора 2-нитрозо-1-нафтола и нагревают до кипения. После охлаждения к растворам приливают по 3 см^3 смеси азотной и фосфорной кислот, содержимое переносят в градуированные пробирки объемом 20 см^3 и доводят до метки дистиллированной водой. Концентрация в них кобальта составляет 0,4,0, 8,0, 12,0, 16,0, 20,0, 40,0 мкг/20 см^3.

Градуировочный график строят в координатах D – C (значение оптической плотности откладывают на оси ординат, концентрацию кобальта в растворе – на оси абсцисс.

Содержание кобальта в мг/кг почвы вычисляют по формуле

$$Co = \frac{C \cdot V_1}{V_2 \cdot m},$$

где C – концентрация кобальта, мкг/20 см^3, найденная по графику; V_1 – объем исходной вытяжки; V_2 – объем аликвоты; m – навеска почвы

Реактивы

1. Маскирующий раствор: смешать равные объемы 20%-го раствора лимоннокислого натрия (ГОСТ 3161, «ч.д.а.») и 40%-го раствора уксуснокислого натрия (ГОСТ 199, «ч.д.а.»).
2. Стандартный раствор сравнения с содержанием кобальта 10 мкг в 1 см^3 (техника приготовления описана разделе I на с. 19). Для приготовления используют ГСО с содержанием кобальта 1 мг/см^3 или кобальт сернокислый (ГОСТ 4462).
3. Смесь кислот: 100 см^3 85%-й ортофосфорной кислоты (ГОСТ 6552, «ч.д.а.») смешивают с 20 см^3 концентрированной азотной кислоты (ГОСТ 4461, «х.ч.»).
4. 2-нитрозо-1-нафтол МРТУ 6-09-5829-69, «ч.д.а.», раствор в дистиллированной воде с массовой долей 0,1%;
5. Перекись водорода (ГОСТ 10929);
6. Кислота соляная (ГОСТ 14261, «ос.ч.»), раствор в дистиллированной воде в соотношении 1:100 по объему.
7. Дистиллированная вода.

Аппаратура и материалы

1. Спектрофотометр, спектроколориметр или ФЭК.
2. Электроплитка бытовая по ГОСТу 1419 или баня песчаная.
3. Колбы мерные объемом 25, 100, 1000 см^3 по ГОСТу 1770.
4. Пипетки объемом 1, 2, 5, 10 и 25 см^3 по ГОСТу 20292.

5. Стаканы объемом 200,500 см^3 по ГОСТу 25336.
6. Пробирки градуированные объемом 20 см^3 с притертыми пробками (ГОСТ 1770).
7. Цилиндры мерные объемом 5 и 10 см^3 по ГОСТу 1770.
8. Бумага индикаторная универсальная ТУ 6-09-1181-76.

Фотометрическое определение содержания подвижных соединений кобальта по методу Крупского и Александровой в модификации ЦИНАО (ГОСТ Р 50683)

Метод основан на извлечении подвижных соединений кобальта из почвы ацетатно-аммонийным буферным раствором с pH 4,8 и последующем фотометрическом определении с 1-(2-пиридилазо)-2-нафтолом (ПАН).

Ход анализа

В делительные воронки вместимостью 250 см^3 помещают по 50 см^3 вытяжек, контрольного раствора и растворов сравнения, приливают по 1 см^3 раствора йоднокислого натрия или пероксида водорода, по 5 см^3 лимоннокислого натрия и по 5 см^3 раствора ПАН. Через 15 мин в делительные воронки приливают по 5 см^3 разбавленной 1:2 серной кислоты и растворы тщательно перемешивают. Затем приливают по 5 см^3 хлороформа и встряхивают в течение 1 мин.

После разделения фаз нижний слой сливают в кювету с просвечивающим слоем 1–3 см. Мутные экстракты перед фотометрированием фильтруют. Фотометрируют экстракты относительно первого раствора сравнения, не содержащего кобальт, при длине волны 630 нм или используют светофильтр с максимумом пропускания в области 610 – 640 нм. Если значение оптической плотности анализируемого раствора превышает значение оптической плотности последнего раствора сравнения, вытяжку разбавляют экстрагирующим раствором и повторяют определение.

Градуировочный график строят по результатам измерения растворов сравнения в координатах D–C, где D – значение оптической плотности (по оси ординат), C – концентрация кобальта в растворах (по оси абсцисс).

Содержание кобальта в почве вычисляют по формуле $X = Kc - c_1$,
где K – коэффициент, учитывающий разбавление вытяжки; c – массовая концентрация кобальта в почвенной вытяжке в пересчете на массовую долю в почве, найденная по графику, млн.$^{-1}$, c_1 – массовая концентрация кобальта в контрольном растворе в пересчете на массовую долю в почве, найденная по графику, млн.$^{-1}$.

Реактивы

1. Стандартный раствор сравнения с содержанием кобальта 100 мкг в 1 см^3 (техника приготовления описана на с. 19).

2. Раствор кобальта массовой концентрации 2 мкг/см^3 – в мерную колбу вместимостью 50 см^3 помещают 1 см^3 раствора с концентрацией элемента 100 мкг/см^3 и доливают до метки экстрагирующим (ацетатно-аммонийным буфером с pH 4,8) раствором. Раствор готовят в день проведения анализа.
3. Растворы сравнения – в мерные колбы вместимостью 100 см^3 из бюретки вместимостью 5 см^3 наливают 0; 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 см^3 раствора кобальта массовой концентрации 2 мкг/см^3 и доливают до метки экстрагирующим раствором. Растворы готовят в день проведения анализа.
4. Раствор ПАН [1-(2-пиридилазо)-2-нафтол– индикатор] с массовой долей 0,2%. Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.
5. Раствор с массовой долей лимоннокислого натрия (ГОСТ3161, «ч.д.а.») 10%-ный – 100 г реактива растворяют в 900 см^3 дистиллированной воды и доводят до метки. Раствор хранят в холодильнике не более 1 мес.
6. Спирт этиловый ректификованный по ГОСТу 18300.
7. Ацетон по ГОСТу 2603.
8. Натрий йоднокислый, раствор с массовой долей 0,2% или водорода пероксид (ГОСТу 10929).
9. Хлороформ по ГОСТу 20015.
10. Кислота серная по ГОСТу 4204 «х.ч.», разбавленная водой 1 : 2 по объему.
11. Вода дистиллированная.

Аппаратура и материалы.

1. Спектрофотометр, спектроколориметр или ФЭК.
2. Электроплитка бытовая по ГОСТу 1419 или баня песчаная.
3. Колбы мерные объемом 50, 100, 1000 см^3 по ГОСТу 1770.
4. Воронки делительные объемом 250 см^3 по ГОСТу 25336.
5. Пипетки объемом 1, 2, 5 и 50 см^3 по ГОСТу 20292.
6. Стакан объемом 50 см^3 по ГОСТу 25336.
7. Цилиндр мерный объемом 5 см^3 по ГОСТу 1770.
8. Бюретка вместимостью 5 см^3 по ГОСТу 25336.

Фотометрическое определение содержания подвижных соединений кобальта по методу Пейве и Ринькиса в модификации ЦИНАО (ГОСТ Р 50687)

Метод предусматривает два варианта фотометрического определения кобальта в вытяжках из почвы (1 М азотной кислоты) – с ПАН и с нитрозо-*Р*-солью.

Фотометрическое определение содержания кобальта с ПАН в почвенной вытяжке

Ход анализа почти полностью совпадает с таковым в описанной выше методике. Различия состоят в аликвоте вытяжки, объемах приливаемых реактивов и составе маскирующего раствора:

♦ в делительные воронки помещают по 10 см^3 вытяжек, контрольного раствора и растворов сравнения, приливают по 1 см^3 пероксида водорода, 10 см^3 маскирующего раствора и по 2 см^3 раствора ПАН. Через 15 мин

добавляют 20 см^3 разбавленной серной кислоты. Далее поступают так же, как в предыдущей методике.

Реактив

Маскирующий раствор – смешивают растворы лимоннокислого натрия с массовой долей 20% и уксуснокислого аммония с массовой долей 40% в отношении 1:1.

Фотометрическое определение содержания кобальта с нитрозо-Р-солью в почвенной вытяжке

Ход анализа

В стаканы помещают по 25 см^3 почвенных вытяжек, контрольного раствора, приливают по 5 см^3 азотной кислоты, разбавленной 1:1, по 2 см^3 пероксида водорода и выпаривают до влажных солей. Повторяют обработку остатков азотной кислотой и пероксидом водорода до тех пор, пока их окраска станет светло-желтой. После такой обработки растворы выпаривают досуха, приливают по 5 см^3 соляной кислоты, разбавленной 1:100, и растворяют остатки при нагревании. Одновременно в такие же стаканы помещают по 5 см^3 растворов сравнения. К анализируемым растворам и растворам сравнения приливают по 3 см^3 окрашивающего раствора, стаканы накрывают часовыми стеклами и кипятят на электроплитке в течение 2 мин или нагревают на кипящей водяной бане в течение 15 мин. Затем приливают по 2 см^3 концентрированной азотной кислоты, растворы тщательно перемешивают, переносят в градуированые пробирки и доливают водой до объема 10 см^3. Мутные растворы фильтруют через бумажные фильтры. Фотометрируют растворы в кюветах с просвечивающим слоем толщиной 2 см относительно первого раствора сравнения, не содержащего кобальт, при длине волны 520 нм или используют светофильтр с максимумом пропускания в области 500 – 540 нм.

Градуировочный график строят по результатам измерения растворов сравнения в координатах D–C, где D – значение оптической плотности (по оси ординат), C – концентрация кобальта в растворах (по оси абсцисс).

Содержание кобальта в почве вычисляют по формуле $X = Kc - c_1$,

где K – коэффициент, учитывающий разбавление вытяжки; c – массовая концентрация кобальта в почвенной вытяжке в пересчете на массовую долю в почве, найденная по графику, млн.$^{-1}$, c_1 – массовая концентрация кобальта в контрольном растворе в пересчете на массовую долю в почве, найденная по графику, млн.$^{-1}$.

Реактивы

1. Окрашивающий раствор – смешивают растворы с массовой долей лимонно-кислого натрия трехзамещенного (ГОСТ 3161, «ч.д.а.») 20%-го, уксуснокислого натрия (ГОСТ 199. «ч.д.а.») 40%-го и нитрозо-*Р*-соли (2-нитрозо-1-нафтол МРТУ

6-09-5829, «ч.д.а.») 0,1%-й в отношении 1:1:1. Смесь готовят в день проведения анализа.

2. Растворы сравнения – в мерные колбы объемом 50 $см^3$ наливают 0; 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 $см^3$ раствора массовой концентрации кобальта 25 мкг/$см^3$ и доливают до метки соляной кислотой, разбавленной 1:100. Растворы готовят в день проведения анализа.

3. Раствор кобальта массовой концентрации 25 мкг/$см^3$: в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 2,5 $см^3$ раствора массовой концентрации 1 мг/$см^3$ и доливают до метки соляной кислотой, разбавленной 1:100. Раствор хранят не более недели.

4. Перекись водорода по ГОСТу 10929.

5. Кислота азотная (ГОСТ 4461, «х.ч.») и раствор в дистиллированной воде 1:1 по объему.

6. Кислота соляная (ГОСТ 14261, «ос.ч.») и раствор в дистиллированной воде в соотношении 1:100 по объему.

7. Дистиллированная вода.

Аппаратура и материалы

1. Спектрофотометр, спектроколориметр или ФЭК.

2. Электроплитка бытовая по ГОСТу 1419 или баня песчаная.

3. Колбы мерные объемом 50, 100, 1000 $см^3$ по ГОСТу 1770.

4. Пипетки объемом 1, 2, 5 и 25 $см^3$ по ГОСТу 20292.

5. Стаканы объемом 100 $см^3$ по ГОСТу 25336.

6. Пробирки градуированные объемом 10 $см^3$ с притертыми пробками (ГОСТ 1770).

7. Цилиндры мерные объемом 5 и 10 $см^3$ по ГОСТу 1770.

Определение содержания молибдена в почвах фотометрическим методом с использованием цинк-дитиола

Метод основан на извлечении соединений элемента из почвы, получении окрашенного комплекса молибдена с дитиолом, экстракции его хлороформом и измерении оптической плотности экстракта (экстракт окрашен в зеленый цвет). Устранение мешающего влияния железа достигается введением аскорбиновой кислоты. Добавление лимонной кислоты предотвращает взаимодействие дитиола с вольфрамом. Мешающее влияние меди устраняют путем связывания ее в комплекс и иодидом.

Ход анализа

Аликвоту 50 – 100 $см^3$ вытяжки из почвы помещают в стакан из термостойкого или кварцевого стекла и выпаривают на плитке досуха. Для обезвоживания остатка и частичной возгонки оксалатов стакан оставляют на плитке еще в течение 30 мин. Затем стакан помещают в холодную муфельную печь и поднимают температуру до 500°С. Сухой остаток вытяжки прокаливают в течение 1 ч. Для полного разрушения

органических соединений к прокаленному остатку добавляют 2 см^3 хлорной кислоты и выпаривают ее на плитке досуха. Затем стакан снова ставят в холодную муфельную печь, поднимают температуру до 500°С и выдерживают в течение 15–20 мин. Прокаленный остаток растворяют при нагревании в 25 см^3 14%-й соляной кислоты. Полученный раствор охлаждают, добавляют к нему 4 см^3 маскирующего раствора, тщательно перемешивают и оставляют на 5 мин. Затем приливают 2 см^3 раствора иодистого калия. Содержимое стакана фильтруют в делительную воронку вместимостью 100 см^3. Объемом 15 см^3 14%-го раствора соляной кислоты обмывают стакан и промывают фильтр. К содержимому делительной воронки добавляют 3 см^3 раствора цинк-дитиола и тщательно перемешивают. Затем добавляют 6 см^3 хлороформа и встряхивают в течение 2 мин. После разделения фаз нижний органический слой фильтруют через сухой бумажный фильтр в пробирку с притертой пробкой или непосредственно в кювету с толщиной просвечивающего слоя 2 см. Оптическую плотность экстрактов измеряют относительно хлороформа при длине волны 680 нм (красный светофильтр). При необходимости использования кювет с толщиной просвечивающего слоя 3 см объемы вытяжки и реактивов увеличивают в 1,5 раза, а хлороформа – в 2,5 раза.

Калибровочную шкалу строят в интервале концентраций от 0 до 4,0 мкг/V, где V – объем хлороформа. Для этого в мерные колбы объемом 100 см^3 приливают 0; 1,0; 2,0; 4,0; 6,0; 8,0; 10,0 см^3 стандартного раствора сравнения молибдена с концентрацией элемента 1 мкг/см^3, добавляют по 10 см^3 1%-го раствора железо-аммонийных квасцов и доводят до метки 14%-м раствором соляной кислоты. Из подготовленной шкалы стандартных растворов сравнения берут по 40 см^3, помещают в делительные воронки, добавляют 4 см^3 маскирующего раствора и 2 см^3 раствора иодистого калия. После введения каждого реактива содержимое воронки тщательно перемешивают. Далее анализ проводят так же, как и для почвенных вытяжек. Концентрация молибдена в экстрактах шкалы составляет 0; 0,4; 0,8; 1,6; 2,4; 3,2 и 4,0 мкг/V.

Градуировочный график строят в координатах D – C (значение оптической плотности откладывают на оси ординат, концентрацию молибдена в растворе – на оси абсцисс).

Содержание молибдена в мг/кг почвы вычисляют по формуле

$$Mo = \frac{C \cdot V_1}{V_2 \cdot m},$$

где C – концентрация молибдена, мкг/V см^3, найденная по графику; V_1 – объем исходной вытяжки; V_2 – объем аликвоты; m – навеска почвы.

Реактивы

1. Маскирующий раствор: 75 г лимонной кислоты и 150 г аскорбиновой кислоты (ГОСТ 4815, «ч.д.а.») растворяют в бидистиллированной воде и доводят объем до 1000 см^3. Раствор хранят в холодильнике не более недели.

2. Цинк-дитиол, раствор с массовой долей 0,3%: 0,3 г цинк-дитиола (МРТУ 2-68, «ч.д.а.») смачивают эталоном, добавляют 4 см бидистиллированной воды и 2 г едкого натра (ГОСТ 4328, «ч.д.а.»), хорошо перемешивают и после полного растворения цинк-дитиола и щелочи доводят объем до 50 $см^3$ бидистиллированной водой. К полученному раствору приливают 50 $см^3$ 50%-го раствора иодистого калия (ГОСТ 4232, «ч.д.а.»). Раствор получается мутным, но это не мешает определению. Раствор готовят в день проведения анализа.

3. Железоаммонийные квасцы (ГОСТ 4205, «х.ч.»), раствор с массовой долей 1%: 10 г реактива растворяют при нагревании растворяют в 14%-й соляной кислоте. После охлаждения объем раствора доводят до 1000 $см^3$ 14%-м раствором соляной кислоты.

4. Стандартный раствор молибдена. Основной раствор: 0,184 г перекристаллизованного молибденовокислого аммония (ГОСТ 3765, «х.ч.») растворяют в бидистиллированной воде и доводят объем до 1000 $см^3$. Концентрация основного стандартного раствора – 100 $мкг/см^3$ молибдена. Рабочий стандартный раствор сравнения: 5,0 $см^3$ основного стандартного раствора помещают в мерную колбу на 500 $см^3$ и доводят объем до метки 14%-м раствором соляной кислоты. Раствор содержит 1 $мкг/см^3$ молибдена.

5. Соляная кислота (ГОСТ 3118, «х.ч.»), раствор с массовой долей 14%: в мерную колбу объемом 1000 $см^3$, заполненную бидистиллированной водой до 500 – 600 $см^3$ приливают 330 $см^3$ концентрированной соляной кислоты (пл. 1,19). До метки доводят бидистиллированной водой.

6. Кислота хлорная по МРТУ 6604 «х.ч.».

7. Этанол (этиловый спирт) по ГОСТу 18300.

8. Хлороформ (ГОСТ 3160, «ч.д.а.»).

9. Вода бидистиллированная.

Аппаратура и материалы

1. Спектрофотометр, спектроколориметр или ФЭК.

2. Муфельная печь.

3. Электроплитка бытовая по ГОСТу 1419.

4. Колбы мерные объемом 100, 500, 1000 $см^3$ по ГОСТу 1770.

5. Пипетки объемом 1, 2, 5, 20, 50, 100 $см^3$ по ГОСТу 20292.

6. Стаканы объемом 100 $см^3$ по ГОСТу 25336.

7. Пробирки градуированные объемом 20 $см^3$ с притертыми пробками (ГОСТ 1770).

8. Цилиндры мерные объемом 5, 10, 25, 50 $см^3$ по ГОСТу 1770.

9. Воронки делительные объемом 100 $см^3$ по ГОСТу 25336.

10. Воронки лабораторные для фильтрования.

11. Фильтры беззольные «белая лента» ТУ 6-09-1678.

Определение содержания подвижных соединений молибдена по методу Григга с цинк-дитиолом в модификации ЦИНАО (ГОСТ Р 50689)

Ход анализа

В стаканы помещают по 100 см^3 почвенных вытяжек и выпаривают их до полного удаления воды и частичной возгонки оксалатов в виде белого дыма. Затем стакан помещают в холодную муфельную печь и поднимают температуру до 500°С. Сухой остаток вытяжки прокаливают в течение 1 ч. Для полного разрушения органики к прокаленному и охлажденному остатку добавляют 2 см^3 хлорной кислоты и выпаривают ее на плитке досуха. Затем стакан снова ставят в холодную муфельную печь, поднимают температуру до 500°С и выдерживают в течение 15 мин Прокаленный остаток растворяют при нагревании в 25 см^3 14%-й соляной кислоты. Полученный раствор охлаждают и переливают в делительные воронки.

Одновременно в такие же делительные воронки помещают по 25 см^3 растворов сравнения. В воронки приливают по 4 см^3 маскирующего раствора, через 5 мин. – по 2 см^3 раствора йодистого калия, по 2 см^3 раствора цинк-дитиола, по 5 см^3 хлороформа и встряхивают воронки в течение 2 мин.

После разделения фаз нижний слой сливают в кювету с просвечивающим слоем толщиной 1 – 2 см и фотометрируют относительно хлороформа при длине волны 680 нм или используют светофильтр с максимумом пропускания в области 660 – 690 нм. Окраска экстрактов стабильна в течение 8 ч.

Градуировочный график строят по результатам измерения растворов сравнения в координатах D–C, где D – значение оптической плотности (по оси ординат), C – концентрация молибдена в растворах (по оси абсцисс).

Содержание молибдена в почве вычисляют по формуле $X = Kc – c_1$, где K – коэффициент, учитывающий разбавление вытяжки; c – массовая концентрация молибдена в почвенной вытяжке в пересчете на массовую долю в почве, найденная по графику, млн.$^{-1}$, c_1 – массовая концентрация молибдена в контрольном растворе в пересчете на массовую долю в почве, найденная по графику, млн.$^{-1}$.

Реактивы (в дополнение к приведенным в разделе на с. 262):

1. Раствор молибдена массовой концентрации 4 мкг/см^3: в мерную колбу вместимостью 50 см^3 помещают 2 см^3 раствора с концентрацией 100 мкг/см^3 и доводят до метки раствором соляной кислоты с массовой долей 14%;

2. Растворы сравнения: в мерные колбы вместимостью 100 см^3 наливают по 20 см^3 раствора хлорного железа 0; 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 см^3 раствора молибдена массовой концентрации 4 мкг/см^3 и доливают до метки раствором соляной кислоты с массовой долей 14%. Растворы готовят в день проведения анализа.

3. Раствор хлорного железа массовой концентрации 5 г/дм^3: 5 г хлорного железа растворяют в растворе соляной кислоты с массовой долей 14% и доводят объем раствора той же кислотой до 1000 см^3.
4. Железо хлорид шестиводный (железо хлорное) по ГОСТу 4147, «х.ч.».

Аппаратура и материалы (см. на с. 262).

Определение содержания молибдена в почвах фотометрическим роданидным методом

Метод основан на извлечении соединений элемента из почвы, получении молибден-роданидного комплекса, окрашенного в слабо оранжево-желтый цвет, экстракции окрашенного комплекса органическим растворителем (*н*-бутанолом или изоамиловым спиртом) и измерении оптической плотности экстракта. Молибден-роданидный комплекс образуется в кислой среде в присутствии восстановителя. Для устранения влияния мешающих элементов (связывания в комплекс алюминия, титана и железа) добавляют раствор фторида натрия. Для предотвращения восстановления молибдена до более низких степеней валентности, чем +5, в анализируемый раствор вводят нитрат натрия.

Ход анализ

Аликвоту 50 –100 см^3 вытяжки из почвы помещают в стакан из термостойкого или кварцевого стекла и выпаривают на плитке досуха. Для обезвоживания остатка и частичной возгонки оксалатов стакан оставляют на плитке еще в течение 30 мин. Затем стакан помещают в холодную муфельную печь и поднимают температуру до 500°С. Сухой остаток вытяжки прокаливают в течение 4 ч. Остаток растворяют при нагревании в 10 см^3 20%-й соляной кислоты, переносят небольшим количеством бидистиллированной воды в мерную колбу объемом 50 см^3, прибавляют 15 см^3 4%-го раствора фторида натрия и 5 см^3 20%-го раствора нитрата натрия, доводят водой до метки и хорошо перемешивают. Содержимое колбы переносят в делительную воронку объемом 100 см^3 (стенки колбы обмывают 2 – 3 см^3 воды), добавляют 4 см^3 20%-го раствора роданида калия, перемешивают и приливают 3 – 4 см^3 10%-го раствора хлорида олова и снова перемешивают. После полного исчезновения буровато-красной окраски от роданида трехвалентного железа в воронку приливают 20 см^3 нормального бутилового спирта, предварительно промытого водой и насыщенного хлоридом олова. Воронку энергично встряхивают в течение 1 мин. После расслоения фаз сливают нижний водный слой, оставляя около 1 см^3. Органический экстракт промывают 20 см^3 свежеприготовленной промывочной смеси. Водную фазу сливают, а экстракт переносят в кювету с толщиной поглощающего слоя 3 см. Добавляют туда же 1 см^3 этилового спирта для освобождения от мелких капелек воды и 1 каплю раствора хлорида олова, осторожно перемешивают стеклянной палочкой и фотометрируют (не

ранее, чем через 20 мин. после прибавления нормального бутилового спирта) при длине волны 453 нм или синем светофильтре относительно нулевого раствора сравнения.

Для построения калибровочного графика из стандартного раствора сравнения, содержащего 1 мкг/см^3 молибдена, отбирают 0; 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 см^3 и помещают в ряд мерных колб объемом 50 см^3. В каждую колбу добавляют по 10 см^3 20%-го раствора соляной кислоты и по 3 см^3 0,5%-го раствора хлорида железа. Содержимое тщательно перемешивают, приливают по 15 см^3 4%-го раствора фторида натрия и по 5 см^3 20%-го раствора нитрата натрия, доводят до метки бидистиллированной водой. Дальнейшие операции такие же, как и при определении молибдена в испытуемых растворах. Концентрация молибдена в экстрактах шкалы составляет 0; 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 мкг/20 см^3.

Градуировочный график строят в координатах D – C (значение оптической плотности откладывают на оси ординат, концентрацию молибдена в растворе – на оси абсцисс.

Содержание молибдена в почве в мг/кг вычисляют по формуле

$$Mo = \frac{C \cdot V_1}{V_2 \cdot m},$$

где C – концентрация молибдена, мкг/20 см^3, найденная по графику; V_1 – объем исходной вытяжки; V_2 – объем аликвоты; m – навеска почвы.

Реактивы

1. Стандартный раствор молибдена. Приготовление см. п. 4, с. 262.

2. 20%-й раствор роданида калия: 20 г KSCN (ГОСТ 4139, «х.ч.») растворяют в бидистиллированной воде, доводят объем до 100 см^3 и фильтруют.

3. 10%-ный раствор хлорида олова: 10 г олова двухлористого, двухводного («ч.д.а.», ГОСТ 36) помещают в стакан, заливают 20 см^3 20%-го раствора соляной кислоты и, накрыв часовым стеклом, кипятят до растворения. Охлажденный раствор переносят в мерную колбу объемом 100 см и доводят до метки бидистиллированной водой.

4. Промывочная смесь: 2 см^3 10%-го раствора хлорида олова + 18 см^3 бидистиллированной воды.

5. 4%-й раствор фторида натрия: 4 г фторида натрия (ГОСТ 4463, «ч.д.а.») растворяют при нагревании в воде, доводят объем до 100 см^3 и фильтруют.

6. 20%-й раствор нитрата натрия: 20 г натрия азотнокислого (ГОСТ 4168, «х.ч.») растворяют в воде, доводят объем до 100 см^3 и фильтруют.

7. Нормальный бутиловый спирт: в делительную воронку объемом 1000 см^3 помещают 250 см^3 спирта (*н*-бутанола, ГОСТ 6006, «ч.д.а.»), добавляют 250 см^3 бидистиллированной воды и встряхивают 1 мин. После разделения фаз нижний водный слой сливают, а к бутиловому спирту добавляют 25 см^3 10%-го раствора хлорида олова, встряхивают 3–5 мин, добавляют 5 см^3 этилового спирта, перемешивают и употребляют для экстракции.

8. 0,5%-й раствор хлорида железа: 0,5 г железа треххлористого (ГОСТ 4147, «х.ч.») растворяют в бидистиллированной воде и доводят объем до 100 см^3.

9. Кислота соляная (ГОСТ 3118, «х.ч.»), раствор в бидистиллированной воде с массовой долей 20%.

10. Кислота соляная (ГОСТ 3118, «х.ч.»), раствор в бидистиллированной воде с массовой долей 14%.

11. Вода бидистиллированная.

Аппаратура и материалы (в дополнение к приведенным на с. 262, п.п. 1–6, 9)

1. Колбы мерные объемом 50 см^3 по ГОСТу 1770.
2. Цилиндры мерные объемом 5, 10, 25, 250 см^3 по ГОСТу 1770.
3. Воронки делительные объемом 100 и 1000 см^3 по ГОСТу 25336.
4. Бумага индикаторная универсальная ТУ 6-09-1181-76.
5. Стеклянные палочки.

Определение содержания подвижных соединений молибдена по методу Григга (роданидный метод) в модификации ЦИНАО (ГОСТ Р 50689)

Ход анализа

В стаканы помещают по 100 см^3 почвенных вытяжек, контрольного раствора и выпаривают их до полного удаления воды и частичной возгонки оксалатов в виде белого дыма. Затем стаканы помещают в холодную муфельную печь и поднимают температуру до 500°С. Сухой остаток вытяжки прокаливают в течение 4 ч. Прокаленный остаток растворяют при нагревании в 10 см^3 17%-й соляной кислоты и фильтруют через бумажные фильтры в делительные воронки, предварительно отметив на воронках объемы 25 см^3. Фильтры промывают 4 – 5 раз водой, доводя объемы растворов до меток. Одновременно в такие же делительные воронки помещают по 25 см^3 растворов сравнения. В воронки приливают по 2 см^3 раствора роданистого калия и по 2 см^3 раствора двухлористого олова. После обесцвечивания окраски роданида железа прибавляют по 10 см^3 изоамилового или *н*-бутилового спирта и встряхивают воронки в течение 2 мин. После разделения фаз нижний водный слой сливают и отбрасывают, оставив около 0,5 см его в воронках с экстрактами. К экстрактам приливают по 10 см^3 промывного раствора и встряхивают в течение 1 мин. После разделения фаз водный слой полностью отбрасывают, а экстракт переносят в кювету с просвечивающим слоем толщиной 2 – 5 см^3, добавляют в кювету 5 капель этилового спирта, перемешивают стеклянной палочкой и оставляют на 5 мин. Фотометрируют относительно изоамилового или *н*-бутилового спирта при длине волны 470 нм или используют светофильтр с максимумом пропускания в области 450 – 490 нм. Окраска экстрактов стабильна в течение 30 мин.

Градуировочный график строят по результатам измерения растворов сравнения в координатах D–C, где D – значение оптической плотности (по оси ординат). C – концентрация молибдена в растворах (по оси абсцисс).

Содержание молибдена в почве вычисляют по формуле на с. 263.

Реактивы

1. Растворы сравнения. Приготовление см. п. 2, с. 263.
2. Раствор молибдена массовой концентрации 4 мкг/см^3 – см. п. 1, стр. 263.
3. 10%-й раствор роданида калия – 10 г KSCN растворяют в бидистиллированной воде, доводят объем до 100 см^3 и фильтруют.
4. 20%-й раствор хлорида олова – 20 г реактива помещают в стакан, заливают 20 см^3 17%-го раствора соляной кислоты, добавляют 1–2 крупинки металлического олова и, накрыв часовым стеклом, кипятят до растворения. Охлажденный раствор переносят в мерную колбу объемом 100 см^3 и доводят до метки бидистиллированной водой.
5. Промывочная смесь – 6 см^3 20%-го раствора хлорида олова + 94 см^3 раствора соляной кислоты (ГОСТ 3118, «х.ч.») с массовой долей 6,5%. Раствор готовят перед промывкой органических экстрактов.
6. Раствор хлорного железа массовой концентрации 5 г/дм^3 – 5 г хлорного железа (хлорид железа шестиводного, ГОСТ 4147, «х.ч.») растворяют в растворе соляной кислоты (ГОСТ 3118, «х.ч.») с массовой долей 17% и доводят объем раствора той же кислотой до 1000 см^3.

Аппаратура и материалы приведены на с. 266 (и 262).

Определение содержания водорастворимого бора в почвах фотометрическим методом с использованием хинализарина

Метод основан на извлечении бора из почвы горячей водой, получении окрашенного комплекса бора с хинализарином (голубого цвета) и измерении оптической плотности раствора. Для коагуляции почвенных коллоидов в воду добавляют сернокислый магний или сернокислую медь. С целью минерализации органических соединений, мешающих определению, вытяжку предварительно обрабатывают перекисью водорода и выпаривают после подщелачивания на водяной бане досуха. Подщелачивание вытяжки позволяет избежать потерь в результате испарения соединений бора. Сухой остаток растворяют в подкисленном растворе гипофосфита с целью устранения мешающих влияний остатков перекиси водорода, а также железа (III) и нитратов.

Ход анализа

10 г почвы или 5 г торфа помещают в коническую колбу объемом 100 см^3 из кварцевого стекла или стекла марок ДГ-29, ХУ-КЛП, С-90. К навеске приливают 50 см^3 0,1%-го раствора $MgSO_4$, вставляют обратный холодильник или маленькую воронку и кипятят на плитке в течение 5 мин. Необходимо следить за колбой, не допуская бурного кипения. Затем содержимое колбы взбалтывают и фильтруют в горячем виде через складчатый фильтр. Следует обязательно ставить холостой опыт.

В стакан из кварцевого стекла или стекла марок ДГ-29, ХУ-КЛП, С-90 объемом 50 см^3 помещают 10 см^3 вытяжки, добавляют 2 см^3 30%-й перекиси водорода и нагревают на водяной бане в течение 1 мин. Затем приливают 2 капли 2 М раствора едкого натра и выпаривают досуха. К сухому остатку добавляют 1 см^3 10%-го раствора гипофосфита кальция,

9 $см^3$ раствора хинализарина и тщательно перемешивают. Раствор переносят в сухую пробирку из кварцевого стекла или стекла марок ДГ-29, ХУ-КЛП, С-90 и оставляют на 30 мин в темном месте. Оптическую плотность измеряют в кюветах с толщиной просвечивающего слоя 2 см и при длине волны 620 нм или оранжево-красном светофильтре относительно нулевого раствора сравнения. При смене раствора в кювете его не сливают, а отсасывают с помощью водоструйного насоса через полиэтиленовый капилляр, чтобы избежать растекания концентрированной серной кислоты по стенкам кюветы.

Калибровочную шкалу строят в интервале концентраций от 0 до 1 мкг/$см^3$ или от 0 до 10 мкг/10 $см^3$ бора. Для этого в мерные колбы объемом 50 $см^3$ помещают 0; 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 и 5,0 $см^3$ стандартного раствора сравнения с концентрацией бора 100 мкг/$см^3$ и доводят до метки бидистиллированной водой. Из приготовленной шкалы рабочих стандартных растворов сравнения берут по 1 $см^3$ и помещают в пробирки, затем добавляют по 9 $см^3$ раствора хинализарина, перемешивают и оставляют в темном месте на 30 мин. Концентрация бора в полученных растворах составляет 0, 1, 2, 4, 6, 8 и 10 мкг/10 $см^3$. По результатам фотометрирования рабочих стандартных растворов сравнения строят *градуировочный график*.

Рассчитывают содержание бора в почве в мг/кг по формуле

$$B = \frac{C \cdot V_0}{V_1 \cdot m},$$

где C – концентрация бора, найденная по графику, мкг/10 $см^3$; V_0 – объем исходной вытяжки, $см^3$; V_1 – объем вытяжки, взятый для анализа, $см^3$; m – навеска почвы, г.

Реактивы

1. Основной стандартный раствор бора: в мерную колбу объемом 1000 $см^3$ помещают 5,720 г борной кислоты (ГОСТ 9656, «х.ч.») и доводят до метки бидистиллированной водой. Концентрация основного стандартного раствора 1 мг/$см^3$ бора. Раствор хранят не более 1 года.

Стандартный раствор сравнения бора: в мерную колбу объемом 100 $см^3$ помещают 10 $см^3$ основного стандартного раствора бора и доводят объем до метки бидистиллированной водой. Концентрация полученного раствора 100 мкг/$см^3$ бора. Раствор хранят не более 1 мес.

2. Основной раствор хинализарина: 0,150 г хинализарина растворяют в серной кислоте и количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$, доливают до метки серной кислотой и тщательно перемешивают. Раствор хранят в склянке из безборного стекла с притертой пробкой в темном месте до 1 года;

3. Рабочий раствор хинализарина: 10 $см^3$ основного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 1000 $см^3$ и доливают до метки серной кислотой. Раствор хранят в склянке из безборного стекла с притертой пробкой в темном месте не более 2 мес.

4. 10%-й раствор гипофосфита: 10 г кальция фосфорноватистокислого (ГОСТ 11678, «ч.д.а.») помещают в мерную колбу объемом 100 $см^3$, растворяют в

небольшом количестве бидистиллированной воды, приливают 5 см^3 концентрированной соляной кислоты (d = 1,19) и доводят объем до метки бидистиллированной водой.

5. 2 М раствор едкого натра: 8 г натра едкого (ГОСТ 4328, «х.ч.») растворяют в дистиллированной воде и доводят объем до 100 см^3.

6. Магний сернокислый (ГОСТ 4523 «х.ч.»), раствор в бидистиллированной воде с массовой долей 0,1%.

7. Перекись водорода по ГОСТу 10929, «х.ч.».

8. Кислота соляная по ГОСТу 3118, «х.ч.».

9. Кислота серная по ГОСТу 4204, «х.ч.».

10. Вода бидистиллированная.

Аппаратура и материалы

1. Спектрофотометр, спектроколориметр или ФЭК.
2. Электроплитка бытовая по ГОСТу 1419.
3. Баня водяная лабораторная.
4. Колбы мерные объемом 50,100, 1000 см^3 по ГОСТу 1770.
5. Пипетки объемом 1,0 2,0, 5,0, 10, 20 см^3 по ГОСТу 20292.
6. Стаканы объемом 50 см^3 из кварцевого стекла или стекла марок ДГ-29, ХУ-КЛП, С-90.
7. Колбы конические объемом 100 см^3 из кварцевого стекла или стекла марок ДГ-29, ХУ-КЛП, С-90.
8. Пробирки объемом 10 см^3 из кварцевого стекла или стекла марок ДГ-29, ХУ-КЛП, С-90.
9. Воронки лабораторные из кварцевого стекла или стекла марок ДГ-29, ХУ-КЛП, С-90.
10. Водоструйный насос.

Определение содержания подвижных соединений бора по методу Бергера и Труога с хинализарином в модификации ЦИНАО (ГОСТ Р 50688)

Ход анализа

Ход анализа для минеральных почв полностью совпадает с приведенным выше (с. 268 – 269).

Градуировочный график строят по результатам измерения растворов сравнения в координатах D–C, где D – значение оптической плотности (по оси ординат), C – концентрация молибдена в растворах (по оси абсцисс).

Содержание бора в почве вычисляют по формуле: $X = Kc - c_1$,
где K – коэффициент, учитывающий разбавление вытяжки; c – массовая концентрация бора в почвенной вытяжке в пересчете на массовую долю в почве, найденная по графику, млн.$^{-1}$, c_1 – массовая концентрация бора в контрольном растворе в пересчете на массовую долю в почве, найденная по графику, млн.$^{-1}$.

Ход анализа (для органогенных почв)

В фарфоровые тигли помещают по 10 $см^3$ почвенных вытяжек, контрольного раствора, приливают по 1 капле раствора гидроксида натрия и выпаривают досуха. Сухой остаток прокаливают в муфельной печи при температуре 600°С в течение 2 ч. После охлаждения в тигли приливают по 1 $см^3$ раствора серной кислоты массовой концентрации 1 М и растворяют сухие остатки. Одновременно в сухие пробирки помещают по 1 $см^3$ растворов сравнения. К анализируемым растворам и растворам сравнения приливают по 9 $см^3$ рабочего раствора хинализарина и содержимое тиглей и пробирок тщательно перемешивают. Затем растворы из тиглей переносят в пробирки. Пробирки с анализируемыми растворами и растворами сравнения закрывают пробками и оставляют на 30 мин в темном месте. Далее анализ проводят как для минеральной почвы.

Реактивы

1. Растворы сравнения – в мерные колбы вместимостью 50 $см^3$ из бюретки наливают 0; 0,25; 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 $см^3$ раствора бора массовой концентрации 10 мкг/$см^3$, доливают до метки водой при анализе минеральных почв или раствором серной кислоты массовой концентрации 1 М при анализе органогенных почв. Растворы готовят в день проведения анализа.

• Приготовление других необходимых по методике *растворов*, а также *аппаратура и материалы* приведены на с. 268-269).

Определение содержания водорастворимого бора в почвах фотометрическим методом с использованием кармина

Метод основан на извлечении бора из почвы горячей водой, получении окрашенного комплекса бора с кармином (синего цвета) и измерении оптической плотности раствора. Для коагуляции почвенных коллоидов в воду добавляют сернокислый магний или сернокислую медь. С целью минерализации органических соединений, мешающих определению, вытяжку предварительно обрабатывают перекисью водорода и выпаривают после подщелачивания на водяной бане досуха. Подщелачивание вытяжки позволяет избежать потерь в результате испарения соединений бора. Сухой остаток растворяют в подкисленном растворе гипофосфита с целью устранения мешающих влияний остатков перекиси водорода, а также железа (III) и нитратов.

Ход анализа

10 г почвы или 5 г торфа помещают в коническую колбу объемом 100 $см^3$ из кварцевого стекла или стекла марок ДГ-29, ХУ-КЛП, С-90. К навеске приливают 50 $см^3$ 0,1%-го раствора $MgSO_4$, вставляют обратный холодильник или маленькую воронку и кипятят на плитке в течение 5 мин. Необходимо следить за колбой, не допуская бурного кипения.

Затем содержимое колбы взбалтывают и фильтруют в горячем виде через складчатый фильтр. Следует обязательно ставить холостой опыт.

В стакан из кварцевого стекла или стекла марок ДГ-29, ХУ-КЛП, С-90 объемом 50 см^3 помещают 10 см^3 вытяжки, добавляют 2 см^3 30%-й перекиси водорода и нагревают на водяной бане в течение 1 мин. Затем приливают 2 капли 2 М раствора едкого натра и выпаривают досуха. К сухому остатку добавляют 1 см^3 10%-го раствора гипофосфита кальция, 1 см^3 0,5 н. раствора серной кислоты и 18 см^3 раствора кармина. Содержимое стакана тщательно перемешивают, переливают в сухую пробирку из кварцевого стекла или стекла марок ДГ-29, ХУ-КЛП, С-90 и оставляют на 2 ч в темном месте. Оптическую плотность измеряют в кювете с толщиной поглощающего слоя 2 см при длине волны 610 нм или оранжево-красном светофильтре.

Калибровочную шкалу строят в интервале концентраций от 0 до 1 мкг/см^3 или от 0 до 10 мкг/20 см^3 бора. Для этого в мерные колбы объемом 50 см^3 помещают 0; 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 и 5,0 см^3 стандартного раствора сравнения с концентрацией бора 100 мкг/см^3 и доводят до метки бидистиллированной водой. Из приготовленной шкалы рабочих стандартных растворов сравнения берут по 1 см^3 и помещают в пробирки, затем добавляют по 1 см^3 0,5 н. раствора серной кислоты и по 18 см^3 раствора кармина, перемешивают и оставляют в темном месте на 2 ч. Концентрация бора в полученных растворах составляет 0, 1, 2, 4, 6, 8 и 10 мкг/20 см^3. По результатам фотометрирования рабочих стандартных растворов сравнения строят *градуировочный график*.

Рассчитывают содержание бора в почве в мг/кг по формуле

$$B = \frac{C \cdot V_0}{V_1 \cdot m},$$

где C – концентрация бора, найденная по графику, мкг/10 см^3; V_0 – объем исходной вытяжки, см^3; V_1 – объем вытяжки, взятый для анализа, см^3; m – навеска почвы, г.

Приготовление реактивов

1. Стандартный раствор бора. Приготовление основного и стандартного растворов сравнения бора см. п. 1, с. 268.
2. 10%-й раствор гипофосфита. Приготовление см. п. 4, с. 268.
3. 0,005%-й раствор кармина: 0,050 г кармина растворить в 1000 см^3 концентрированной серной кислоты (d = 1,84).
4. 0,5 н. раствор H_2SO_4 – 14 см^3 концентрированной серной кислоты по ГОСТу 4204 (d = 1,84), «х.ч.», разбавить бидистиллированной водой до 1000 см^3.
5. Магний сернокислый по ГОСТу 4523, «х.ч.», раствор в бидистиллированной воде с массовой долей 0,1%;
6. Перекись водорода по ГОСТу 10929, «х.ч.»;
7. Кислота соляная по ГОСТу 3118, «х.ч.»;
8. Вода бидистиллированная.

Аппаратура и материалы (см. с. 269).

Определение содержания водорастворимого бора в почвах фотометрическим методом с использованием азометина Н

Метод основан на извлечении бора из почвы горячей водой, получении окрашенного комплекса бора с азометином Н (желтого цвета) и измерении оптической плотности раствора. Окрашенные органические соединения разрушают с помощью перманганата калия. Мешающее влияние меди, алюминия и железа (III) устраняют связыванием их в комплексы с трилоном Б.

Ход анализа

10 г почвы или 5 г торфа помещают в коническую колбу объемом 100 $см^3$ из кварцевого стекла или стекла марок ДГ-29, ХУ-КЛП, С-90. К навеске приливают 50 $см^3$ 0,1%-го раствора $MgSO_4$, вставляют обратный холодильник или маленькую воронку и кипятят на плитке в течение 5 мин. Необходимо следить за колбой, не допуская бурного кипения. Затем содержимое колбы взбалтывают и фильтруют в горячем виде через складчатый фильтр. Следует обязательно ставить холостой опыт.

Аликвоту фильтрата 5 $см^3$ помещают в пробирку из кварцевого стекла или стекла марок ДГ-29, ХУ-КЛП, С-90 и добавляют 0,5 $см^3$ окислительной смеси. Пробирку помещают в кипящую водяную баню на 10 мин. Содержимое пробирки охлаждают и добавляют к нему 0,5 $см^3$ 10%-го раствора аскорбиновой кислоты. После обесцвечивания раствора в пробирку приливают 4 $см^3$ окрашивающего реактива, перемешивают и оставляют на 2 ч. Оптическую плотность раствора измеряют при длине волны 415 – 420 нм относительно нулевого раствора сравнения.

Калибровочную шкалу строят в интервале концентраций от 0 до 100 мкг бора в 10 $см^3$ раствора. Для этого в мерные колбы объемом 50 $см^3$ помещают 0; 1,0; 2,0; 4,0; 6,0; 8,0 и 10 $см^3$ стандартного раствора сравнения с концентрацией бора 100 мкг/$см^3$ и доводят до метки 0,1%-м раствором сульфата магния. Из приготовленной шкалы рабочих стандартных растворов сравнения берут по 5 $см^3$, помещают в пробирки и далее проводят анализ, как описано выше. Концентрация бора в полученных растворах составляет 0, 10, 20, 40, 60, 80 и 100 мкг/10 $см^3$. По результатам фотометрирования рабочих стандартных растворов сравнения строят *градуировочный график*.

Содержание бора в почве вычисляют по формуле приведенной на с. 272.

Реактивы

1. Приготовление основного и стандартного растворов сравнения бора см. п. 1, с. 268.
2. Окислительная смесь (готовят в день анализа) – смешивают в соотношении 1:1 по объему 6 н. раствор H_2SO_4 и 0,2 н. раствор $KMnO_4$ (ГОСТ 20490, «х.ч.»).
3. 6 н. раствор H_2SO_4 – 168 $см^3$ концентрированной серной кислоты разбавляют бидистиллированной водой до 1000 $см^3$.
4. 0,2 н. раствор $KMnO_4$: 3,2 г помещают в мерную колбу объемом 500 $см^3$, растворяют и доводят до метки бидистиллированной водой.

5. 0,9%-ный раствор азометина Н: 0,9 г азометина Н и 2 г аскорбиновой кислоты (ГОСТ 4815) растворяют в 20 – 30 $см^3$ бидистиллированной воды при осторожном нагревании на водяной бане. Объем доводят до 100 $см^3$ и хранят в холодильнике не более двух недель.
6. Азометин Н (синтез см. в ПРИЛОЖЕНИИ).
7. Буферный маскирующий раствор: 500 г уксуснокислого аммония (ГОСТ 3117, «х.ч.») и 1 г трилона Б (ГОСТ 10652) растворяют в бидистиллированной воде и доводят объем до 1000 $см^3$. Доводят pH до 5,2 ± 0,2 разбавленным раствором серной кислоты.
8. Окрашивающий реактив – смешивают в соотношении 1:1 по объему 0,9%-й раствор азометина Н и маскирующий буферный раствор.
9. Магний сернокислый (ГОСТ 4523, «х.ч.»), раствор в бидистиллированной воде с массовой долей 0,1%.
10. Кислота серная по ГОСТу 4204, «х.ч.».
11. Мононатриевая соль Н-кислоты МРТУ 6-09-803.
12. Вода бидистиллированная.

Аппаратура и материалы (в дополнение к п.п. 1–5, 8–10 на с. 269).
1. Цилиндры мерные объемом 25 и 250 $см^3$ по ГОСТу 1770.
2. Воронка Бюхнера.
3. Бумага индикаторная универсальная ТУ 6-09-1181.

Определение содержания подвижных соединений бора по методу Бергера и Труога с азометином Н в модификации ЦИНАО (ГОСТ Р 50688)

Ход анализа для минеральных почв полностью совпадает с приведенным в методике на с. 272.

Градуировочный график строят по результатам измерения растворов сравнения в координатах D–C, где D – значение оптической плотности (по оси ординат), C – концентрация молибдена в растворах (по оси абсцисс).

Содержание бора в почве вычисляют по формуле, приведенной на с. 270–271.

Ход анализа (для органогенных почв)

В сухие пробирки приливают по 5 $см^3$ почвенных вытяжек, контрольного раствора и растворов сравнения, добавляют по 1 $см^3$ окисляющего раствора и погружают в кипящую водяную баню на 15 мин. Затем пробирки охлаждают до комнатной температуры и приливают по 0,5 $см^3$ раствора аскорбиновой кислоты с массовой долей 10% и перемешивают содержимое до растворения осадка двуокиси марганца. К прозрачным растворам приливают по 4 $см^3$ окрашивающего раствора и оставляют на 2 ч. Далее проводят анализ, как для минеральных почв.

Реактивы

1. Растворы сравнения: в мерные колбы вместимостью 50 $см^3$ из бюретки наливают 0; 0,5; 1,0; 2,0; 4,0; 6,0; 8,0; 10,0 $см^3$ раствора бора массовой концентрации 10 мкг/$см^3$ и доливают до метки раствором сернокислого магния с массовой долей 0,1%.

2. Раствор бора с массовой долей 10 мкг/см^3: в мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 10 см^3 раствора бора концентрации 100 мкг/см^3 и доливают до метки раствором сернокислого магния с массовой долей 0,1%. Раствор готовят в день проведения анализа.

3. Окисляющий раствор для минеральных почв: смешивают серную кислоты, разбавленную 1 : 5, и раствор марганцовокислого калия с массовой долей 1% в отношении 1 : 1. Раствор готовят в день анализа.

Определение содержания свинца в почве атомно-абсорбционным методом

Метод основан на извлечении соединений элемента из почвы (переведении их в раствор) и измерении поглощения электромагнитного резонансного излучения свободными атомами свинца.

Содержание свинца в используемых вытяжках можно определять атомно-абсорбционным методом напрямую в пламени ацетилен–воздух. Техника проведения измерений и подготовки стандартных растворов сравнения приведена в разделе I на с. 14 – 22.

Определение содержания свинца в почве фотометрическим методом с использованием дитизона

Метод основан на извлечении соединений элемента из почвы (переведении их в раствор), получении окрашенного комплекса свинца с дитизоном (карминово-красного цвета), экстракции его четыреххлористым углеродом и измерении оптической плотности экстракта. Оптимальные условия образования и экстрагирования комплекса pH 8 – 10. Осаждение легко гидролизующихся в щелочной среде ионов *(Fe(III), Al, Ti(IV))* предотвращается добавлением лимоннокислого аммония. Мешающие влияния большой группы элементов (*Zn, Cu, Ni, Co* и др.) устраняются в процессе реэкстракции свинца в водный раствор в кислой среде, а также с помощью раствора цианида калия (цианиды образуют прочные комплексы с этими элементами).

Ход анализа

В делительную воронку объемом 100 см^3 помещают аликвоту исследуемого раствора (25–50 см^3), приливают 10 см^3 10%-го раствора лимоннокислого аммония и 1–2 капли индикатора тимолового синего и нейтрализуют 10%-м раствором аммиака до pH 9–10 (синяя окраска индикатора). Затем добавляют 5 см^3 0,001%-го раствора дитизона в CCl_4 и встряхивают. После разделения фаз экстракт сливают в другую делительную воронку. Экстрагирование повторяют до прекращения изменения окраски раствора дитизона. Все экстракты объединяют. В делительную воронку с объединенными экстрактами приливают 10 см^3 0,02 М HCl и встряхивают, чтобы реэкстрагировать свинец в водную фазу. Водный раствор переносят в третью делительную воронку.

Органическую фазу промывают бидистиллированной водой. Промывную воду присоединяют к водному раствору в третьей делительной воронке.

К водному раствору свинца приливают 5 $см^3$ 10%-го лимоннокислого аммония и нейтрализуют аммиаком до pH 9 (по тимоловому синему). Добавляют 1 $см^3$ 5%-го раствора KCN (цианида калия), 5 $см^3$ 0,001%-го раствора дитизона в CCl_4 и встряхивают. После разделения фаз органический слой сливают в мерную колбу емкостью 25 $см^3$ и повторяют экстрагирование дитизоната свинца до прекращения изменения окраски раствора дитизона. Экстракты объединяют, доливают до метки чистым CCl_4 и перемешивают. Оптическую плотность измеряют при длине волны 520 нм или зеленом светофильтре относительно чистого CCl_4.

Калибровочную шкалу строят в интервале концентраций от 0 до 50 мкг свинца в 25 $см^3$ раствора. Для этого в делительные воронки помещают 0; 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 $см^3$ стандартного раствора сравнения свинца с концентрацией 10 мкг/см, уравнивают растворы до объема 50 $см^3$ бидистиллированной водой, добавляют по 5 $см^3$ 10%-го раствора лимоннокислого аммония и нейтрализуют аммиаком до pH 9. Затем приливают по 1 $см^3$ 5%-го раствора цианида калия, по 5 $см^3$ 0,001%-го раствора дитизона в CCl_4 и встряхивают. Органические фазы сливают в мерные колбы объемом 25 $см^3$. Экстрагирование повторяют до прекращения изменения окраски раствора дитизона. Колбы доводят до метки четыреххлористым углеродом. Концентрация свинца в экстрактах составляет соответственно 0; 5,0; 10,0; 20,0; 30,0; 40,0; 50,0 мкг в 25 $см^3$ По результатам фотометрирования рабочих стандартных растворов сравнения строят *градуировочный график.*

Рассчитывают содержание свинца в почве в мг/кг по формуле

$$Pb = \frac{C \cdot V_0}{V_1 \cdot m},$$

где C – концентрация свинца, найденная по графику, мкг/25 $см^3$; V_0 – объем исходной вытяжки, $см^3$; V_1 – объем вытяжки, взятый для анализа, $см^3$; m – навеска почвы, г.

Реактивы

1. Стандартный раствор свинца с содержанием элемента 1 мкг/$см^3$ техника приготовления описана в разделе I на с. 18.

Стандартный раствор сравнения свинца – в мерную колбу объемом 100 $см^3$ помещают 1 $см^3$ основного стандартного раствора свинца и доводят объем до метки бидистиллированной водой. Концентрация полученного раствора 10 мкг/$см^3$ свинца. Раствор готовят в день выполнения анализа.

2. Раствор дитизона в четыреххлористом углероде с массовой долей 0,05% (основной). Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

3. Рабочий 0,001%-й раствор дитизона готовят в день проведения анализа: 10 $см^3$ основного раствора дитизона (ГОСТ 10165, «ч.д.а.») помещают в мерную колбу объемом 500 $см^3$ и доводят до метки четыреххлористым углеродом.

4. 5%-й раствор цианида калия: 5 г калия цианововокислого (ТУ 6-09-1109-75) растворяют в бидистиллированной воде в объеме 100 $см^3$ и очищают дитизоном

(ГОСТ 10165, «ч.д.а.»), как указано на с. 238. Приготовленный раствор хранят в полиэтиленовой посуде.

5. 10%-й раствор аммония лимоннокислого: 50 г аммония лимоннокислого трехзамещенного (ГОСТ 9464) растворяют в бидистиллированной воде в объеме 500 см и очищают дитизоном, (см. с. 238). Приготовленный раствор хранят в полиэтиленовой посуде.

6. Аммиак водный (ГОСТ 3760, «х.ч.»), раствор в бидистиллированной воде с массовой долей 10%.

7. Кислота соляная (ГОСТ 14261, «ос.ч.»), 0,02 М раствор в бидистиллированной воде.

8. Индикатор тимоловый синий ТУ 6-09-4530.

9. Кислота серная по ГОСТ 4204, «х.ч.», раствор в бидистиллированной воде 1:5 по объему.

10. Вода бидистиллированная.

Аппаратура, реактивы, материалы

1. Спектрофотометр, спектроколориметр или ФЭК.
2. Государственный стандартный образец (ГСО) с концентрацией 1000 мкг/см^3 Pb или металлический свинец (ТУ 6-09-3523-80).
3. Колбы мерные объемом 25 см^3, 100 см^3, 500 см^3 и 1000 см^3 (ГОСТ 1770).
4. Воронки делительные объемом 100 см и 250 см^3 (ГОСТ 25336).
5. Пипетки объемом 1, 2, 5, 10, 25, 50 см^3 (ГОСТ 20292).
6. Цилиндры мерные объемом 10 см^3 (ГОСТ 1770).

Определение содержания кадмия в почве атомно-абсорбционным методом

Метод основан на извлечении соединений элемента из почвы (переведении их в раствор) и измерении поглощения электромагнитного резонансного излучения свободными атомами кадмия.

Содержание кадмия в используемых вытяжках можно определять атомно-абсорбционным методом напрямую в пламени ацетилен – воздух. Способы извлечения валового содержания и подвижных форм кадмия, а также техника проведения измерений и подготовки стандартных растворов сравнения приведены в разделе I на с. 14 – 22.

Определение содержания кадмия в почве фотометрическим методом с использованием дитизона

Метод основан на извлечении соединений элемента из почвы (переведении их в раствор), получении в сильнощелочной среде окрашенного комплекса кадмия с дитизоном (красного цвета), экстракции его четыреххлористым углеродом и измерении оптической плотности экстракта. Катионы мешающих элементов удаляют предварительной экстракцией дитизоном в кислой среде. На результаты определения кадмия оказывает влияние цинк при его содержании в анализируемом растворе, в 500 и более раз превышающем концентрацию кадмия.

Осаждение легко гидролизующихся в щелочной среде ионов *(Fe(III), Al, Ti(IV))* предотвращается добавлением тартрата калия-натрия. Введение в раствор гидроксиламина позволяет защитить раствор дитизона от действия окислителей.

Ход анализа

В делительную воронку объемом 150 $см^3$ помещают аликвоту анализируемого раствора (50–100 $см^3$), подкисляют 10%-й соляной кислотой до pH 2,0, приливают 5 $см^3$ 0,002%-го раствора дитизона в четыреххлористом углероде и интенсивно встряхивают. После разделения фаз органический слой отбрасывают. Экстракцию повторяют до тех пор, пока окраска последней порции дитизона перестанет изменяться. К отделенной водной фазе добавляют 10 $см^3$ 20%-го раствора соли Сегнетова, 0,5 $см^3$ 1%-го спиртового раствора диметилглиоксима, по каплям добавляют 10%-й раствор аммиака до нейтральной реакции и тщательно перемешивают. Затем добавляют 1 $см^3$ 20%-го раствора гидроксиламина и 40%-й раствор едкого натра в таком количестве, чтобы его концентрация в анализируемом растворе составляла около 5 – 10% (при аликвоте 50 $см^3$ – добавляют 10–12 $см^3$ 40%-го раствора NaOH, при аликвоте 100 – 20 $см^3$). После каждого добавленного реагента содержимое делительной воронки тщательно перемешивают. Затем приливают 5 $см^3$ раствора дитизона и энергично встряхивают. После разделения фаз органический экстракт переносят в мерную колбу объемом 25 $см^3$. Экстракцию повторяют до тех пор, пока органическая фаза перестанет приобретать окраску. Экстракты объединяют и доливают до метки чистым четыреххлористым углеродом. Оптическую плотность измеряют при длине волны 520 нм или зеленом светофильтре относительно чистого четыреххлористого углерода.

Калибровочную шкалу строят в интервале концентраций от 0 до 25 мкг кадмия в 25 $см^3$ раствора. Для этого в делительные воронки помещают 0; 5,0; 10,0; 15,0; 20,0; 25,0 $см^3$ стандартного раствора сравнения кадмия с концентрацией 1,0 мкг/$см^3$, уравнивают растворы до объема 50 $см^3$ бидистиллированной водой, добавляют по 10 $см^3$ 20%-го раствора соли Сегнетова, 0,5 $см^3$ 1%-го раствора диметилглиоксима и нейтрализуют аммиаком до нейтральной реакции. Затем приливают по 1 $см^3$ 20%-го раствора гидроксиламина и 10 см 40%-го раствора едкого натра. После каждого добавленного реагента содержимое делительной воронки тщательно перемешивают. Затем приливают 5 $см^3$ раствора дитизона и энергично встряхивают. После разделения фаз органический экстракт переносят в мерную колбу объемом 25 $см^3$. Экстракцию повторяют до тех пор, пока органическая фаза перестанет приобретать окраску. Экстракты объединяют и доливают до метки чистым четыреххлористым углеродом. Концентрация кадмия в экстрактах шкалы составляет: 0; 5,0; 10,0; 15,0; 20,0; 25,0 мкг в 25 $см^3$. По результатам фотометрирования рабочих стандартных растворов сравнения строят *градуировочный график*.

Рассчитывают содержание кадмия в почве (в мг/кг) по формуле

$$Cd = \frac{C \cdot V_0}{V_1 \cdot m}$$

где C – концентрация кадмия, найденная по графику, мкг/25 см^3; V_0 – объем исходной вытяжки, см^3; V_1 – объем вытяжки, взятый для анализа, см^3; m – навеска почвы, г.

Реактивы

1. Стандартный раствор кадмия с концентрацией элемента 1000 мкг в 1 см^3: техника приготовления описана в разделе I на с. 19. из ГСО с концентрацией 1000 мкг/см^3 Cd или оксида кадмия (ГОСТ 11120). Стандартный раствор кадмия с содержанием элемента 100 мкг/см^3 (раствор А): в колбу емкостью 100 см^3 помещают 10 см^3 основного стандартного раствора и доводят до метки 1%-м раствором азотной кислоты. Стандартный раствор сравнения с концентрацией 1 мкг/см^3 (раствор В): 1 см^3 раствора А помещают в мерную колбу емкостью 100 см^3 и доводят до метки бидистиллированной водой. Раствор Б готовят в день проведения анализа.

2. Раствор дитизона в четыреххлористом углероде с массовой долей 0,05% (основной). Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

3. Рабочий 0,002%-й раствор дитизона (готовят в день проведения анализа): 20 см^3 основного раствора дитизона помещают в мерную колбу объемом 500 см^3 и доводят до метки четыреххлористым углеродом.

4. 20%-й раствор виннокислого калия-натрия (соль Сегнетова ГОСТ 5845): 100 г реактива растворяют в бидистиллированной воде и доводят до объема 500 см^3. Полученный раствор очищают дитизоном (см. с. 238).

5. 20%-й раствор гидроксиламина солянокислого: 20 г гидроксиламина солянокислого (ГОСТ 5456, «ч.д.а.») растворяют в бидистиллированной воде и доводят объем до 100 см^3. Полученный раствор очищают дитизоном (см. с. 234).

6. 1%-й раствор диметилглиоксима: 1 г диметилглиоксима (ГОСТ 5828, «ч.д.а.») реактива помещают в мерную колбу объемом 100 см^3 и доводят до метки этиловым спиртом (ГОСТ 18300).

7. Аммиак водный (ГОСТ 3760, «х.ч.»), раствор в бидистиллированной воде с массовой долей 10%.

8. Кислота соляная (ГОСТ 14261, «ос.ч.»), раствор в бидистиллированной воде с массовой долей 10%.

9. Кислота серная (ГОСТ4204, «х.ч.»), раствор в бидистиллированной воде 1:5 по объему.

10. Натр едкий (ГОСТ 4328, «ч.д.а.»), раствор в бидистиллированной воде с массовой долей 40%.

17. Вода бидистиллированная.

Аппаратура, реактивы, материалы

1. Спектрофотометр, спектроколориметр или ФЭК.

2. Колбы мерные объемом 25 см^3, 100 см^3, 500 см^3 и 1000 см^3 по ГОСТ 1770.

3. Воронки делительные объемом 150 см^3 и 250 см^3 по ГОСТ 25336.

4. Пипетки объемом 1, 5, 10, 20, 25, 50, 100 см^3 по ГОСТ 20292.

5. Цилиндры мерные объемом 10, 20 см^3 по ГОСТ 1770.

Определение содержания никеля в почве атомно-абсорбционным методом

Метод основан на извлечении соединений элемента из почвы (переведении их в раствор) и измерении поглощения электромагнитного резонансного излучения свободными атомами никеля.

Содержание никеля в используемых вытяжках можно определять атомно-абсорбционным методом напрямую в пламени ацетилен – воздух. Техника проведения измерений и подготовки стандартных растворов сравнения приведена в разделе I на с. 14 – 22.

Определение содержания никеля в почве фотометрическим методом с использованием диметилглиоксима

Метод основан на извлечении соединений элемента из почвы (переведении их в раствор), получении окрашенного комплекса никеля с диметилглиоксимом (красно-коричневого цвета) и измерении оптической плотности раствора. Никель, связанный в комплекс с диметилглиоксимом, предварительно отделяют экстракцией хлороформом, устраняя тем самым мешающее влияние ряда элементов. Получение окрашенного комплекса проводят после реэкстракции никеля в водную фазу.

Ход анализа.

Аликвоту анализируемого раствора 5 – 50 $см^3$ помещают в делительную воронку объемом 100 $см^3$ (если аликвота меньше 50 $см^3$, то до этого объема ее доливают бидистиллированной водой), доводят 10%-м раствором аммиака до pH 5,5 – 6,0, добавляют 2 $см^3$ 1%-го спиртового раствора диметилглиоксима и перемешивают. Через 5 мин к полученному раствору добавляют 5 $см^3$ хлороформа и энергично встряхивают. После разделения фаз органический слой переносят в смесительный цилиндр объемом 100 $см^3$. К оставшемуся водному раствору вновь приливают 5 $см^3$ хлороформа и экстракцию повторяют. К объединенному органическому экстракту добавляют 5 $см^3$ 0,5 М раствора соляной кислоты и энергично встряхивают. Водную фазу переносят в мерную колбу объемом 25 $см^3$. Повторно проводят в смесительном цилиндре реэкстракцию никеля в 5 $см^3$ 0,5 М раствор соляной кислоты. Органический слой отбрасывают, а водный раствор объединяют с предыдущим. В полученный реэкстракт добавляют 2 $см^3$ бромной воды, 2 $см^3$ 4%-го раствора персульфата аммония и 2 $см^3$ 1%-го раствора диметилглиоксима в 5%-м растворе едкого кали. Содержимое колбы перемешивают и через 10 мин. доводят объем до 25 $см^3$ бидистиллированной водой. Измерение оптической плотности проводят при длине волны 450 нм или синем светофильтре относительно нулевого раствора сравнения.

Калибровочную шкалу строят в интервале концентраций от 0 до 50 мкг никеля в 25 $см^3$ раствора. Для этого в мерные колбы объемом 25 $см^3$ помещают 0; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 $см^3$ стандартного раствора сравнения никеля с концентрацией

10,0 мкг/см^3, уравнивают растворы до объема 10 см^3 бидистиллированной водой, добавляют 2 см^3 бромной воды, 2 см^3 4%-го раствора персульфата аммония и 2 см^3 1%-го раствора диметилглиоксима в 5%-м растворе едкого кали. Содержимое колбы перемешивают, через 10 мин. доводят объем до 25 см^3 бидистиллированной и измеряют оптическую плотность. Концентрация никеля в стандартных растворах сравнения составляет 0; 10,0; 20,0; 30,0; 40,0; 50,0 мкг в 25 см^3. По результатам фотометрирования рабочих стандартных растворов сравнения строят *градуировочный график.*

Рассчитывают содержание никеля в почве (в мг/кг) по формуле

$$Ni = \frac{C \cdot V_0}{V_1 \cdot m}$$

где C – концентрация никеля, найденная по графику, мкг/25 см^3; V_0 – объем исходной вытяжки, см^3; V_1 – объем вытяжки, взятый для анализа, см^3; m – навеска почвы, г.

Реактивы

1. Стандартный раствор никеля с концентрацией элемента 1000 мкг в 1 см^3 (техника его приготовления описана в разделе I на с. 19 из ГСО с концентрацией 1000 мкг/см^3 Ni или никеля азотнокислого шестиводного ГОСТ 4055). Стандартный раствор никеля с содержанием элемента 100 мкг/см^3 (раствор А): в колбу емкостью 100 см^3 помещают 10 см^3 основного стандартного раствора и доводят до метки 1%-м раствором азотной кислоты. Стандартный раствор сравнения с концентрацией 10 мкг/см^3 (раствор Б): 10 см^3 раствора А помещают в мерную колбу емкостью 100 см^3 и доводят до метки бидистиллированной водой. Раствор Б готовят в день проведения анализа.
2. 1%-й раствор диметилглиоксима: 1 г реактива помещают в мерную колбу объемом 100 см^3 и доводят до метки этиловым спиртом
3. 1%-й раствор диметилглиоксима в 5%-м растворе КОН: 1 г диметилглиоксима (ГОСТ 5828, «ч.д.а.») растворяют в 20 – 30 см^3 бидистиллированной воды и помещают в мерную колбу объемом 100 см^3, добавляют 5 г КОН растворяют и доводят до метки бидистиллированной водой.
4. 4%-й раствор персульфата аммония: 4 г ммония надсернокислого (ГОСТ 20478) реактива растворяют в бидистиллированной воде и доводят объем до 100 см^3. Раствор готовят в день проведения анализа.
5. Бромная вода: в склянку с хорошо притертой пробкой наливают бидистиллированную воду и добавляют небольшое количество брома (ГОСТ 4109, «х.ч.») (2–3 см^3 на 100 см^3 воды). Оставляют содержимое склянки в покое не менее суток для насыщения воды бромом. На дне склянки всегда должен находиться избыток нерастворившегося брома.
7. Аммиак водный (ГОСТ 3760, «х.ч.»), раствор в бидистиллированной воде с массовой долей 10%.
8. Кислота соляная (ГОСТ 14261, «ос.ч.»), 0.5 М раствор в бидистиллированной воде.
9. Хлороформ по ГОСТ 3160 «ч.д.а.».
10. Калия гидроксид по ОСТ 6-01-301.
11. Бидистиллированная вода.

Аппаратура и материалы

1. Спектрофотометр, спектроколориметр или ФЭК.
2. Бумага индикаторная «Рифан» pH 5,8–7,4, ТУ 6-09-3410-73.
3. Колбы мерные объемом 25 см^3, 100 см^3,1000 см^3 по ГОСТу 1770.
4. Воронки делительные объемом 100 см^3 по ГОСТу 25336.
5. Смесительные цилиндры объемом 100 см^3 по ГОСТу 25336.
6. Пипетки объемом 1, 2, 5, 10, 25, 50, см^3 по ГОСТу 20292.

Определение содержания хрома в почве атомно-абсорбционным методом

Метод основан на извлечении соединений элемента из почвы (переведении их в раствор) и измерении поглощения электромагнитного резонансного излучения свободными атомами хрома.

Содержание хрома в используемых вытяжках можно определять атомно-абсорбционным методом напрямую в пламени ацетилен – воздух. Техника проведения измерений и подготовки стандартных растворов сравнения приведена в разделе I на с. 14 – 22.

Определение содержания хрома в почве фотометрическим методом с использованием дифенилкарбазида

Метод основан на извлечении соединений элемента из почвы (переведении их в раствор), получении в кислой среде окрашенного комплекса хрома (VI) с дифенилкарбазидом (красно-фиолетового цвета) и измерении оптической плотности раствора. Обязательной операцией является предварительное окисление хрома (III) до хрома (VI). Мешающее влияние молибдена и ванадия устраняют в процессе осаждения хрома и других гидролизующихся металлов в виде гидроксидов. Мешающее определению железо удаляют из раствора экстракцией с 8-оксихинолином в хлороформе.

Ход анализа.

Аликвоту анализируемого раствора 100 – 150 см^3 (V_1) помещают в стакан объемом 250 см^3, нагревают до 80° С и добавляют 10%-й раствор едкого натра до pH 12 (по индикаторной бумаге). Стакан оставляют в теплом месте для полной коагуляции осадка на 20 – 30 мин, а затем фильтруют содержимое через рыхлый беззольный фильтр. Осадок промывают 0,5%-м раствором едкого натра до потери реакции на хлорид-ионы (по азотнокислому серебру). Осадок в стакане и на фильтре растворяют в горячей разбавленной 1:1 по объему соляной кислоте. Раствор собирают в мерную колбу объемом 50 см^3. (V_{01}). Фильтр тщательно промывают 1%-м раствором соляной кислоты, объединяя промывные воды с анализируемым раствором. До метки раствор доводят бидистиллированной водой. Берут аликвоту 20 – 25 см^3 (V_2) и помещают в делительную воронку емкостью 100 см^3 (предварительно отмечают на делительной воронке объем 45 см^3). Приливают 5 см^3 5%-й малоновой

кислоты, нейтрализуют раствор до pH 4 (по индикаторной бумаге) 0,5%-м раствором едкого натра и разбавляют до 45 $см^3$ бидистиллированной водой. Затем добавляют 5 $см^3$ 0,1 М раствора 8-оксихинолина в хлороформе и встряхивают 1,5 мин. Органическую фазу отбрасывают. Экстракцию повторяют до прекращения изменения окраски органического слоя. Для удаления избытка оксихинолина водную фазу промывают два раза по 5 $см^3$ чистым хлороформом (каждый раз отбрасывая органический слой) и затем количественно переносят в коническую колбу объемом 100 $см^3$. pH раствора доводят до 10 – 12 10%-м раствором едкого натра, приливают 0,5 $см^3$ 30%-й перекиси водорода и, закрыв горло колбы маленькой воронкой, кипятят раствор 45 мин для окисления хрома (III) до хрома (VI). Содержимое колбы охлаждают, нейтрализуют раствор 10%-й соляной кислотой до pH 4–5 и количественно переносят в мерную колбу емкостью 50 $см^3$ (V_{02}). Раствор доводят до метки бидистиллированной водой и перемешивают.

Из мерной колбы берут аликвоту раствора 5 – 20 $см^3$ (V_3), переносят в мерную колбу объемом 25 $см^3$, добавляют 2,5 $см^3$ 4 М раствора соляной кислоты, 1 $см^3$ 0,25%-го раствора дифенилкарбазида в смешанном водно-ацетоновом растворе. Раствор доливают до метки бидистиллированной водой и перемешивают. Оптическую плотность окрашенного раствора измеряют при длине волны 550 нм или желто-зеленом светофильтре относительно нулевого раствора сравнения.

Калибровочную шкалу готовят в интервале концентраций от 0 до 10 мкг хрома в 25 $см^3$ раствора. Для этого в мерные колбы объемом 25 $см^3$ помещают 0; 0,5; 1,0; 2,0; 4,0; 6,0; 8,0; 10,0 $см^3$ стандартного раствора, содержащего 1 мкг/$см^3$ хрома. Растворы разбавляют до половины колбы бидистиллированной водой, добавляют по 2,5 $см^3$ 4 М раствора соляной кислоты, 1 $см^3$ раствора дифенилкарбазида, доливают до метки бидистиллированной водой и перемешивают. Концентрация хрома в приготовленных рабочих стандартных растворах сравнения составляет 0; 0,5; 1,0; 2,0; 4,0; 6,0; 8,0; 10,0 мкг в 25 $см^3$. По результатам фотометрирования рабочих стандартных растворов сравнения строят *градуировочный график*.

Рассчитывают содержание хрома в почве в мг/кг по формуле

$$Cr = \frac{C \cdot V_0 V_{01} \cdot V_{02}}{m \cdot V_1 \cdot V_2 \cdot V_3}$$

где C – концентрация хрома, найденная по графику, мкг/25 $см^3$; V_0 – объем исходной вытяжки, $см^3$; V_1 – аликвота вытяжки, взятая для анализа, $см^3$; V_2, V_3 – аликвоты, взятые в процессе анализа, $см^3$; V_{01}, V_{02} – объемы 50 $см^3$ и 50 $см^3$ (см. Ход анализа); m – навеска почвы, г

Реактивы

1. Стандартный раствор хрома с концентрацией элемента 1000 мкг в 1 $см^3$ (см. раздел I, с. 19, готовят из ГСО с концентрацией 1000 мкг/$см^3$ Cr или калия хромовокислого ГОСТ 4220). Стандартный раствор хрома с содержанием элемента 100 мкг/$см^3$ (раствор А): в колбу емкостью 100 $см^3$ помещают 10 $см^3$ основного стандартного раствора и доводят до метки 1%-м раствором азотной

кислоты. Стандартный раствор сравнения с концентрацией 10 мкг/см^3 (раствор Б): 10 см^3 раствора А помещают в мерную колбу емкостью 100 см^3 и доводят до метки бидистиллированной водой. Раствор Б готовят в день проведения анализа.
2. 0,1 М раствор 8-оксихинолина в хлороформе: 14,52 г 8-оксихинолина (ГОСТ 5847, «ч.д.а.») растворяют в хлороформе (ГОСТ 3160, «ч.д.а.») и доводят объем до 1000 см^3.
3. 0,25%-й раствор дифенилкарбазида в смешанном 1:1 водноацетоновом растворе: 0,25 г дифенилкарбазида (ГОСТ 5859, «ч.д.а.») растворяют в 50 см^3 ацетона (ГОСТ 2603, «ч.д.а.»), затем добавляют 50 см^3 бидистиллированной воды. Раствор готовят в день проведения анализа.
4. 5%-ный раствор малоновой кислоты: 5 г малоновой кислоты (ТУ 6-09-2608, «ч.д.а.») растворяют в бидистиллированной воде и доводят объем до 100 см^3.
5. Кислота соляная (ГОСТ 14261, «ос.ч.»), 4 М раствор в бидистиллированной воде.
6. Кислота соляная (ГОСТ 14261 «ос.ч.»), раствор в бидистиллированной воде с массовой долей 10%, 1%; и раствор в бидистиллированной воде 1:1 по объему.
7. Натр едкий (ГОСТ 4328 «х.ч.»), раствор в бидистиллированной воде с массовой долей 10% и 0,5%.
8. Перекись водорода (ГОСТ 10929 «х.ч.»).
9. Серебро азотнокислое (ГОСТ 1277, «х.ч.») раствор в бидистиллированной воде с массовой долей 1%.

Аппаратура и материалы

1. Спектрофотометр, спектроколориметр или ФЭК.
2. Баня водяная лабораторная.
3. Фильтры беззольные «белая лента»ТУ 6-09-1678.
4. Колбы мерные объемом 25, 50, 100,1000 см^3 по ГОСТу 1770.
5. Цилиндры мерные объемом 5,10 см^3 по ГОСТу 1770.
6. Стаканы объемом 250 см^3 по ГОСТу 25336.
7. Колбы конические объемом 100 см^3 по ГОСТу 25336.
8. Воронки делительные объемом 100 см^3 по ГОСТу 25336.
9. Воронки лабораторные.
10. Пипетки объемом 1, 2, 5, 10, 20, 25, 50, 100, см^3 по ГОСТу 20292.
11. Бумага индикаторная универсальная ТУ 6-09-1181-76.

Определение содержания ртути в почве беспламенным атомно-абсорбционным методом (методом «холодного пара»)

Метод основан на извлечении соединений элемента из почвы (переведении их в раствор) и измерении поглощения электромагнитного резонансного излучения свободными атомами ртути. Для получения атомного пара ртути осуществляют восстановление в растворе химически связанной ртути до металлической, перевод ее в газовую фазу потоком воздуха и продувку этого воздуха с парами ртути через атомизатор (кварцевую трубку). Приводимая ниже методика является модификацией атомно-абсорбционного метода определения ртути с использованием отечественного ртутного анализатора типа «Юлия».

В почве, как правило, определяют валовое содержание ртути, реже – экстрагируемое 1 М раствором соляной кислоты. Техника получения из почвы вытяжки 1 М HCl – общепринятая (приведена в табл. 22, с. 235).

Подготовка почвы при определении валового содержания ртути: навеску 2 г помещают в коническую колбу объемом 100 см^3, приливают 10 см^3 смеси концентрированных серной и азотной кислот в соотношении 1:1 (по объему). Содержимое тщательно перемешивают стеклянной палочкой и накрывают часовым стеклом. Разложение проводят на водяной бане при температуре 60–80°С в течение 2 часов или при комнатной температуре в течение 18–20 ч. После разложения почвы в каждую колбу приливают по 15 см^3 5%-го раствора перманганата калия и осторожно перемешивают. Затем добавляют по 5 см^3 5%-го раствора персульфата калия для разложения органических соединений и оставляют стоять 18–20 ч. После этого содержимое колбы фильтруют в мерную колбу объемом 100 см^3 через фильтр «синяя лента», предварительно промытый 4 М раствором HCl. Осадок промывают порциями бидистиллированной воды и доводят объем до метки.

Реактивы

1. 5%-й раствор калия марганцовокислого– 5 г реактива (ГОСТ 20490, «х.ч.») растворяют в бидистиллированной воде и доводят объем до 100 см^3.
2. 5%-й раствор калия надсернокислого (персульфата ГОСТ 4146, «ч.д.а.»): 5 г реактива растворяют в бидистиллированной воде и доводят объем до 100 см^3.
3. Кислота азотная по ГОСТу 11125 «ос.ч.».
4. Кислота серная по ГОСТу 14262 «ос.ч.».
5. Кислота соляная (ГОСТ 14261 «ос.ч.»), 4 М раствор в бидистиллированной воде.
6. Вода бидистиллированная.

Аппаратура и материалы

1. Весы лабораторные общего назначения 2 класса точности по ГОСТу 24104.
2. Баня водяная лабораторная.
3. Колбы конические объемом 100 см^3 по ГОСТу 25336.
4. Колбы мерные объемом 100 см^3 по ГОСТу 1770.
5. Цилиндры мерные объемом 5 и 20 см^3 по ГОСТу 25336.
6. Воронки лабораторные по ГОСТу 25336.
7. Стекла часовые.
8. Палочки стеклянные.
9. Фильтры беззольные «синяя лента».

Ход анализа

Аликвоту анализируемого раствора 1–2 см^3 помещают в реакционную пробирку (1), добавляют 1 см^3 10%-го раствора двухлористого олова и сразу же вводят в склянку барбатер. Снимают показания иономера. При сильном пенообразовании в реакционную пробирку перед добавлением раствора двухлористого олова вносят одну каплю силиконового или вазелинового масла. После окончания измерения помещают барбатер из

реакционной пробирки в пустую приборную пробирку (2) и продувают газодинамическую систему анализатора до установления показаний стрелки иономера на цифру 100. Перед началом измерения барбатер находится в приборной пробирке (3), заполненной перед началом анализа 5 $см^3$ 5%-го раствора перманганата калия для поглощения отработанной ртути.

Калибровочную шкалу строят для двух диапазонов от 0 до 0,01 мкг и от 0,01 до 0,03 мкг ртути в реакционной пробирке. Для этого в реакционную пробирку вносят поочередно 0; 0,3; 0,5; 0,6; 0,8 и 1,0 $см^3$ стандартного раствора сравнения, содержащего 0,01 мкг в 1 $см^3$ ртути (0; 0,003; 0,005; 0,006; 0,008; 0,01 мкг в реакционной пробирке), добавляют бидистиллированную воду до объема 2 $см^3$. Затем приливают 1 $см^3$ 10%-го раствора двухлористого олова и сразу же вводят в склянку барбатер. Записывают показания иономера. Для построения калибровочной шкалы с диапазоном 0,01 – 0,03 мкг в реакционную пробирку вносят поочередно 0; 0,10; 0,15; 0,20; 0,25; 0,30 $см^3$ стандартного раствора сравнения, содержащего 0,1 мкг/$см^3$ ртути (0; 0,010; 0,015; 0,020; 0,025; 0,030 мкг в реакционной пробирке). Далее ход анализа такой же, как и для растворов калибровочной шкалы от 0 до 0,01 мкг.

Градуировочный график строят, откладывая по оси абсцисс концентрацию ртути в мкг/V реакционной пробирки, по оси ординат – пропускание, выраженное в % от полной шкалы в диапазоне 4 – 9 иономера. Оцифровка «0–100» верхней шкалы иономера соответствует диапазону 40 – 90 относительных единиц пропускания интенсивности резонансного излучения ртути.

Содержание ртути в мг/кг почвы рассчитывают по формуле

$$Hg, = \frac{C \cdot V_0}{V_1 \cdot m},$$

где C – концентрация ртути, найденная по градуировочному графику, мкг/V; V_0 – объем исходной вытяжки (объем раствора разложенной пробы – 100 $см^3$), V_1 – объем аликвоты, $см^3$; m – навеска почвы, г.

Реактивы

1. Основной стандартный раствор ртути с концентрацией 100 мкг/$см^3$: 0,166 г азотнокислой ртути (ГОСТ 4520, «х.ч.») растворяют в бидистиллированной воде в колбе объемом 1000 $см^3$, предварительно добавив 30 $см^3$ концентрированной азотной кислоты (ГОСТ 11125, «ос.ч.») и несколько кристаллов калия хромовокислого (ГОСТ 4459 «х.ч.»). Раствор хранят в течение 3 месяцев. Или используют ГСО раствора соли ртути.

2. Стандартный раствор с концентрацией ртути 10 мкг/$см^3$: 10 $см^3$ основного стандартного раствора ртути помещают в мерную колбу объемом 100 $см^3$ и доводят до метки бидистиллированной водой. Раствор готовят в день проведения анализа.

3. Стандартный раствор с концентрацией ртути 0,1 мкг/$см^3$: 5 $см^3$ раствора с концентрацией ртути 10 мкг/$см^3$ помещают в мерную колбу вместимостью 500 $см^3$ и доводят объем до метки бидистиллированной водой. Раствор готовят в день проведения анализа.

4. Стандартный раствор с концентрацией ртути 0,01 мкг/см^3: 10 см^3 раствора с концентрацией 0,1 мкг/см^3 помещают в мерную колбу объемом 100 см^3 и доводят до метки бидистиллированной водой. Раствор готовят в день проведения анализа;

5. 10%-й раствор двухлористого олова: 12 г олова двухлористого безводного (ГОСТ 3678, «ч.д.а.») растворяют в 15 см^3 концентрированной соляной кислоты и доводят объем бидистиллированной водой до 100 см^3.

6. 5%-й раствор калия марганцовокислого (перманганата калия, ГОСТ 20490, «х.ч.»): 5 г реактива растворяют в бидистиллированной воде и доводят объем до 100 см^3. Раствор готовят в день проведения анализа.

7. Масло вазелиновое или силиконовое.

8. Вода бидистиллированная.

Аппаратура и материалы

1. Анализатор ртути «Юлия-2», «Ртуть-101» или любой другой аналогичный анализатор ртути.
2. Иономер или pH-метр (типа ЭВ-74, pH 121).
3. Колбы мерные объемом 100, 500, 1000 см^3 по ГОСТ 1770.
4. Пипетки объемом 1, 2, 5, 10 см^3 по ГОСТу 20292.
5. Цилиндр мерный объемом 50 см^3 по ГОСТу 25336.

Определение содержания селена в почве флуориметрическим методом с использованием 2,3-диаминонафталина

Метод основан на извлечении соединений элемента из почвы (переведении их в раствор), получении в кислой среде комплекса селена с 2,3-диаминонафталином-4,5-бензопиазоселенола (флуоресцирует желто-красным цветом при ультрафиолетовом облучении), экстракции комплекса и измерении интенсивности флуоресценции экстракта под действием ультрафиолетового облучения. Азотная кислота мешает определению селена, поэтому после разложения проб почв азотную кислоту удаляют добавлением мочевины или нагреванием растворов до паров хлорной кислоты. Мешающие влияния железа, кальция, магния, меди, никеля, молибдена и кобальта устраняют связыванием их в комплекс с трилоном Б.

В почве, как правило, определяют валовое содержание селена, реже кислоторастворимые (1 М HCl) и водорастворимые формы.

Подготовка почвы при определении валового содержания селена

Вариант 1. Навеску 0,1 г почвы помещают в пробирку объемом 15 см^3 с притертой пробкой и приливают 1 см^3 концентрированной азотной кислоты. Пробирку оставляют на час, после чего добавляют 0,5 см^3 концентрированной соляной кислоты, закрывают пробками, в течение часа несколько раз перемешивают (слегка приоткрывая пробку) и оставляют на 18–20 ч. После чего растворы отфильтровывают через фильтр диаметром 5 см, остаток промывают бидистиллированной водой, которую присоединяют к фильтрату и добавляют 0,2 г мочевины. Фильтр с остатком помещают в стакан объемом 50 см^3, приливают 2 см^3

концентрированной азотной кислоты и 1 см^3 концентрированной хлорной кислоты, накрывают часовым стеклом и нагревают на плитке до появления паров хлорной кислоты. После полного разрушения фильтра и остатка в стакан добавляют 3–5 см^3 бидистиллированной воды и содержимое присоединяют к основному раствору (фильтрату). Доводят объем бидистиллированной водой до 20 см^3.

Вариант 2. Навеску 0,5 г почвы помещают в коническую колбу объемом 50 см^3, приливают 5 см^3 концентрированной азотной кислоты и через 12 ч добавляют 4 см^3 концентрированной хлорной кислоты. Колбу накрывают маленькой воронкой в качестве обратного холодильника и нагревают на водяной бане в течение 30 мин. После этого воронки снимают и колбы нагревают на плитке до появления паров хлорной кислоты. Затем содержимое охлаждают, добавляют 1 см^3 30%-й перекиси водорода и вновь нагревают до появления паров хлорной кислоты. После охлаждения в колбу приливают 20 см^3 бидистиллированной воды.

Реактивы

1. Кислота азотная по ГОСТу 11125 «ос.ч.».
2. Кислота соляная по ГОСТу 14261 «ос.ч.».
3. Кислота хлорная по ТУ 6-09-2878-73 «х.ч.».
4. Вода бидистиллированная.
5. Аммиак водный (ГОСТ 3760 «х.ч.»), раствор в бидистиллированной воде с массовой долей 10%.
6. Перекись водорода (ГОСТ 10929 «х.ч.»).
7. Мочевина (карбамид) по ГОСТу 6691 «ч.д.а.».

Аппаратура и материалы

1. Электроплитка бытовая по ГОСТу 1419.
2. Баня водяная лабораторная.
3. Пробирки с притертыми пробками объемом 15 см^3 по ГОСТу 1770.
4. Колбы конические объемом 50 см^3 по ГОСТу 25336.
5. Цилиндры мерные объемом 5, см^3 по ГОСТу 1770.
6. Стаканы объемом 50 см^3 по ГОСТу 25336.
7. Воронки лабораторные по ГОСТу 25336.
8. Часовые стекла.
9. Бумага индикаторная универсальная ТУ 6-09-1181-76.
10. Фильтры беззольные «белая лента»ТУ 6-09-1678-77.

Ход анализа

Полученный после разложения проб раствор (или аликвоту вытяжки 20 см^3) помещают в стакан объемом 50 см^3, добавляют 10%-й раствор аммиака до pH 1 (pH водной вытяжки доводят 1 М раствором HCl). Затем приливают 2 см^3 2%-го раствора трилона Б, 2 см^3 0,1%-го раствора 2,3-диаминонафталина в 0,1 М соляной кислоте (после добавления каждого из реактивов содержимое стакана перемешивают), накрывают часовым стеклом и нагревают 5 мин на кипящей водяной бане. После охлаждения раствор переливают в делительную воронку объемом

100 см^3, добавляют 5 см^3 циклогексана и энергично встряхивают в течение 1 мин. После разделения фаз органический экстракт фильтруют через маленький фильтр в пробирку с притертой пробкой. После окончания экстрагирования серии проб (10 – 15 образцов) измеряют интенсивность флуоресценции растворов, помещенных в кюветы или в специальные пробирки с плоским дном. Флуоресценцию комплекса селена возбуждают облучением экстрактов ртутной лампой при длине волны 366 нм, а измеряют интенсивность флуоресценции с вторичным светофильтром при длине волны 520 нм.

Калибровочную шкалу строят в интервале концентраций от 0 до 0,5 мкг селена в 5 см^3 циклогексана. Для этого в серию стаканов объемом 50 см^3 помещают 0; 0,1; 0,2; 0,5; 1,0; 2,5; 5,0 см^3 стандартного раствора с концентрацией 0,1 мкг/см^3 селена, доводят объем до 20 см^3 0,1 М раствором соляной кислоты и устанавливают pH 1 добавлением 10%-го раствора аммиака или 1 М раствора соляной кислоты. Затем добавляют по 0,2 г мочевины (растворяют и перемешивают), по 2 см^3 2%-го раствора трилона Б и по 2 см^3 0,1%-го раствора 2,3-диаминонафталина (после добавления каждого из реактивов раствор перемешивают) и нагревают 5 мин на кипящей водяной бане. Далее поступают так, как при анализе проб. Концентрация селена в рабочих стандартных растворах сравнения составляет 0; 0,01; 0,02; 0,05; 0,10; 0,25 и 0,50 мкг в 5 см^3 циклогексана.

Содержание селена в почве в мкг/кг определяют по формуле

$Se = C / m$ (при определении валового содержания),

$Se = C \cdot V_0 / (V_1 \cdot m)$ (при определении подвижных форм),

где C – количество селена, найденное по градуировочному графику в мкг/5 см^3; m – навеска почвы, г; V_0 – объем исходной вытяжки, см^3; V_1 – аликвота вытяжки, см^3.

Реактивы:

1. Основной стандартный раствор селена с концентрацией 100 мкг в 1 см^3: 0,2190 г натрия селенита (Na_2SeO_3) растворяют в бидистиллированной воде, в которую предварительно добавлено 10 см^3 бромистоводородной кислоты. До объема 1000 см^3 раствор доводят бидистиллированной водой.

2. Стандартный раствор селена с концентрацией 1 мкг/см^3: 2,5 см^3 основного стандартного раствора селена помещают в мерную колбу объемом 250 см^3 и доводят до метки бидистиллированной водой. Раствор готовят в день проведения анализа.

3. Рабочий стандартный раствор сравнения с концентрацией селена 0,1 мкг/см^3: 2,5 см^3 стандартного раствора селена с концентрацией 1 мкг/см^3 помещают в мерную колбу объемом 25 см^3 и доводят до метки бидистиллированной водой.

4. 2%-й раствор трилона Б (ГОСТ 10652): 20 г реактива растворяют ≈ в 500 см^3 бидистиллированной воды при нагревании. После охлаждения доводят до объема 1000 см^3 бидистиллированной водой.

5. 0,1%-й раствор 2,3-диаминонафталина (D 2757 фирмы SIGMA (USA)) в 0,1 М HCl: 50 мг реактива растворяют в 50 см^3 0,1 М соляной кислоты. Раствор помещают в делительную воронку объемом 250 см^3 и приливают 50 см^3 циклогексана (ТУ 6-09-06-452-76 «х.ч.»). После энергичного встряхивания в

течение 1–2 мин водную фазу сливают через бумажный фильтр в склянку из темного стекла с притертой пробкой.

6. 0,1 М раствор соляной кислоты: 8,23 см^3 концентрированной соляной кислоты (ГОСТ 14261, «ос.ч.»), разбавляют до 1000 см^3 бидистиллированной водой.

7. Аммиак водный (ГОСТ 3760, «х.ч.»), раствор в бидистиллированной воде с массовой долей 10%;

8. Мочевина (карбамид) по ГОСТ 6691, «ч.д.а.».

9. Бромистоводородная кислота по ГОСТ 2062 «ч.д.а.».

Аппаратура и материалы

1. Спектрофлуориметр, флуориметр типа ЭФ–3М или ФАС–2.
2. Баня водяная лабораторная.
3. Государственный стандартный образец (ГСО) с концентрацией 1000 мкг/см^3 Se или натрий селенистокислый по ТУ 6-09-1315-76.
4. Колбы мерные объемом 25 см^3, 250 см^3, и 1000 см^3 по ГОСТу 1770.
5. Воронки делительные объемом 100 и 250 см^3 по ГОСТу 25336.
6. Стаканы объемом 50 см^3 по ГОСТу 25336.
7. Пипетки объемом 1, 2, 5 см^3 по ГОСТу 20292.
8. Цилиндр мерный объемом 10 см^3 по ГОСТу 25336.
9. Часовые стекла.

Определение содержания мышьяка в почве фотометрическим методом с использованием молибдата аммония

Метод основан на извлечении соединений элемента из почвы (переведении их в раствор), отделении мышьяка от основной массы пробы дистилляцией арсина, образовании окрашенного в синий цвет («молибденовая синь») мышьяково-молибденового комплекса и измерении оптической плотности раствора. Установка для дистилляции арсина показана на рис. 20.

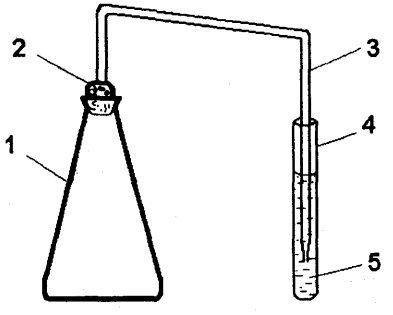


Рис. 20. Прибор для определения мышьяка:

1 – отгонная колба; 2 – вата, пропитанная ацетатом свинца и помещенная в горловину соединительной трубки (3); 4 – пробирка для поглощения мышьяка; 5 – поглотительный раствор

В почве, как правило, определяют валовое содержание мышьяка, реже кислоторастворимые (вытяжка 1 М HCl или 0,2 М HCl) формы.

Подготовка почвы к определению валового содержания мышьяка

Навеску 1–2 г почвы помещают в стакан объемом 100 $см^3$, приливают 10 $см^3$ концентрированной азотной кислоты и 5 $см^3$ концентрированной серной кислоты, накрывают часовыми стеклами.

Стакан помещают на песчаную баню или электроплитку и нагревают до кипения, периодически помешивая содержимое для предупреждения выброса суспензии. Разложение пробы продолжают до приобретения пробой почвы белого или светло-серого цвета и появления белых паров SO_3. Если при появлении паров SO_3 содержимое стакана сохраняет желтую или буровато-желтую окраску, то необходимо добавить 2–3 $см^3$ концентрированной азотной кислоты и продолжить нагревание до просветления пробы и появления белых паров SO_3. После этого в стакан добавляют 2–3 $см^3$ бидистиллированной воды и продолжают нагревание с целью удаления остатков азотной кислоты до появления паров SO_3.

Ход анализа

Разложенную пробу почвы количественно с помощью 40 $см^3$ бидистиллированной воды переносят в отгонную колбу объемом 100 $см^3$ (или помещают в отгонную колбу аликвоту вытяжки 40 $см^3$), добавляют 20 $см^3$ концентрированной соляной кислоты, 2 $см^3$ 15%-го раствора йодида калия, 1 $см^3$ 40%-го раствора двухлористого олова. Содержимое колбы перемешивают и оставляют на 15 мин.

В поглотительную пробирку наливают 5 $см^3$ 0,001 н. раствора йода в йодиде калия, добавляют 0,2 $см^3$ 4%-го раствора бикарбоната натрия и помещают пробирку в сосуд со льдом.

В отгонную колбу добавляют 5 г гранулированного металлического цинка, быстро закрывают пробкой с соединительной трубкой, конец которой погружают в поглотительную пробирку и оставляют на 18 – 20 ч (раствор йода в поглотительной пробирке до конца реакции должен сохранять желтый цвет). Затем отсоединяют соединительную трубку, в поглотительную пробирку добавляют 1 каплю 5%-го раствора метабисульфита для удаления избытка йода и приливают 1 $см^3$ красящего реагента Б. Через 15 мин проводят измерение оптической плотности раствора при длине волны 870 нм.

Калибровочную шкалу готовят в интервале концентраций от 0 до 10 мкг мышьяка на поглотительную пробирку (объем 6.2 $см^3$). Для этого в отгонные колбы помещают 0; 1.0; 2.0; 4.0; 6.0; 8.0; 10.0 $см^3$ стандартного раствора мышьяка с концентрацией 1 $мкг/см^3$. Уравнивают объемы до 40 $см^3$ бидистиллированной водой. Добавляют 20 $см^3$ концентрированной соляной кислоты, 2 $см^3$ 15%-го раствора йодида калия и 1 $см^3$ 40%-го раствора двухлористого олова. Далее поступают, как при анализе проб. Концентрация мышьяка в рабочих стандартных растворах сравнения составляет 0, 1.0, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0 мкг в 6.2 $см^3$. По результатам фотометрирования рабочих стандартных растворов сравнения строят *градуировочный график*.

Рассчитывают содержание мышьяка в почве в мг/кг по формуле

$As = C/m$ – при определении валового содержания мышьяка или

$As = C \cdot V_0/(m \cdot V_1)$ – при определении подвижных соединений элемента, где C – концентрация мышьяка, найденная по градуировочному графику в мкг/6,2 см^3; m – навеска почвы; V_0 – исходный объем вытяжки; V_1 – аликвота вытяжки.

Реактивы

1. Основной стандартный раствор мышьяка с концентрацией 1 мг/см^3: 1,32 г As_2O_3 (мышьяковистый ангидрид) растворяют в 500 см^3 бидистиллированной воды, в которую предварительно добавляют 10 см^3 35%-го раствора едкого натра. После растворения мышьяковистого ангидрида щелочь нейтрализуют добавлением 3.3 см^3 70%-го раствора серной кислоты. Доводят до объема 1000 см^3 бидистиллированной водой. Раствор хранят в течение года. Или используют ГСО с концентрацией 1000 мкг/см^3 As.

2. Стандартный раствор мышьяка с концентрацией 100 мкг/см^3 10 см^3 основного стандартного раствора мышьяка помещают в мерную колбу объемом 100 см^3 и доводят до метки бидистиллированной водой.

3. Рабочий стандартный раствор мышьяка с концентрацией 1 мкг/см^3: 1 см^3 стандартного раствора с концентрацией 100 мкг/см^3 помещают в мерную колбу объемом 100 см^3 и доводят до метки бидистиллированной водой. Раствор готовят в день проведения анализа.

4. Красящий реагент – реактив А: 12 г перекристаллизованного парамолибдата аммония $(NH_4)_6Mo_7O_{34}\cdot 24\ H_2O$ (ГОСТ 3765, «х.ч.») растворяют в 250 см^3 бидистиллированной воды. Параллельно 0,2908 г сурьмяновиннокислого калия $K(SbO)C_4H_4O_6\cdot 0{,}5H_2O$ (ТУ 6-09-803-76, «ч.д.а.») растворяют в 100 см^3 бидистиллированной воды. Оба раствора объединяют, приливают 1000 см^3 5 н. H_2SO_4 и доводят объем до 2000 см^3 бидистиллированной водой. Реактив А хранят в темной склянке. Реактив Б: 1,056 г аскорбиновой кислоты (ГОСТ 4815) растворяют в 200 см^3 реактива А. Реактив Б (красящий реагент) готовят непосредственно перед применением.

5. 40%-й раствор двухлористого олова в концентрированной соляной кислоте: 20 г олова двухлористого безводного (ГОСТ 3678, «ч.д.а.») растворяют в 30 см^3 концентрированной соляной кислоты. До объема 50 см^3 раствор доводят концентрированной соляной кислотой. Раствор готовят в день проведения анализа.

6. 15%-й раствор иодида калия: 15г реактива растворяют в бидистиллированной воде и доводят объем до 100 см^3. Раствор готовят в день проведения анализа.

7. 5%-й раствор метабисульфита: 1,25 г калия сернистокислого пирометабисульфита (ГОСТ 5713, «ч.д.а.») растворяют в бидистиллированной воде и доводят объем до 25 см^3. Раствор готовят в день проведения анализа.

8. 4%-й раствор бикарбоната натрия (ГОСТ 4201): 2 г реактива растворяют в бидистиллированной воде и доводят объем до 50 см^3. Раствор готовят в день проведения анализа.

9. 0,02 н. раствор йода в йодиде калия: 2,45 г йода (ТУ 6-09-2545, «ос.ч.») и 8 г йодида калия (ТУ 6-09-39-09-75, «ос.ч.») растворяют в 25 см^3 бидистиллированной воды и доводят бидистиллированной водой до объема 1000 см^3. Хранят приготовленный раствор в темной склянке. Рабочий 0,001 н. раствор поглотителя готовят в день проведения анализа – 5 см^3 основного 0,02 н. раствора помещают в мерную колбу объемом 100 см^3 и доводят до метки бидистиллированной водой.

10. Наполнитель для соединительной трубки: вату пропитывают 20%-м раствором уксуснокислого свинца (ГОСТ 1027), высушивают и помещают в соединительную трубку.
11. 20%-й раствор уксуснокислого свинца (ГОСТ 1027): 20 г реактива растворяют в дистиллированной воде и доводят объем до 100 $см^3$.
12. Кислота азотная по ГОСТу 11125 «ос.ч.».
13. Кислота соляная по ГОСТу 14261 «ос.ч.».
14. Кислота серная по ГОСТу 4204 «х.ч.».
15. Лед.
16. Бидистиллированная вода.
17. Натр едкий по ГОСТу 4328, «х.ч.», раствор в бидистиллированной воде с массовой долей 30%;

Аппаратура и материалы
1. Спектрофотометр, спектроколориметр, КФК–2 или ФЭК–60.
2. Баня песчаная или электроплитка бытовая по ГОСТу 1419.
3. Трубки соединительные.
4. Колбы мерные объемом 25, 50, 100,1000 и 2000 $см^3$ по ГОСТу 1770.
5. Цилиндры мерные объемом 5, 10, 25, 50, 500 $см^3$ по ГОСТу 1770.
6. Стаканы объемом 100 $см^3$ по ГОСТу 25336.
7. Колбы отгонные конические со шлифами объемом 100 $см^3$.
8. Пипетки объемом 1, 2, 5 $см^3$ по ГОСТу 20292.
9. Часовые стекла.
10. Пробирки объемом 20 $см^3$ с притертыми пробками по ГОСТу 1770.

Определение содержания фторидов в почве ионометрическим методом

Определение общего содержания фторидов и их водорастворимых форм основано на извлечении их из почвы, измерении активности ионов фтора на фоне буферного раствора (хлорида натрия и нитрата лантана с pH 5,8) с использованием фторидного электрода. Мешающее влияние железа (III) и алюминия устраняют путем маскирования ЭДТА и ацетат-ионами. Определению фторидов мешают катионы, образующие прочные фторидные комплексы (торий, цирконий).

Общее содержание фторидов

Ход анализа

Навеску почвы массой 1 г смешивают с 10 г щелочного плава (калия-натрия карбоната), помещают в никелевый тигель и сплавляют в муфельной печи 4 ч при температуре 900°С. Затем плав дважды выщелачивают горячей дистиллированной водой по 10–15 $см^3$ и фильтруют через фильтр «синяя лента» в фарфоровую чашку объемом 100 $см^3$. Фильтрат нейтрализуют 5 М раствором соляной кислоты до pH 5,5 – 6,0, добавляют 10 г карбоната аммония для осаждения карбоната железа и других металлов и выпаривают на водяной бане до удаления запаха аммиака. По окончании выпаривания раствор фильтруют в полиэтиленовый цилиндр объемом 50 $см^3$, дважды обмывают чашку

горячей дистиллированной водой и доводят объем до метки. Аликвоту 10 см^3 подготовленного раствора помещают в полиэтиленовый стакан объемом 50 см^3, нейтрализуют до pH 5,8 5 М раствором соляной кислоты, добавляют 10 см^3 буферного раствора, погружают электроды, перемешивают раствор с использованием магнитной мешалки в течение 1 мин. (по секундомеру) и измеряют показания разности электродных потенциалов.

Калибровочную шкалу строят в диапазоне концентраций от 0 до 0,0008 М фторидов (0; 0,00002 М; 0,00004 М; 0,00006 М; 0,00008 М; 0,0002 М; 0,0004 М; 0,0006 М и 0,0008 М или 0,0; 0,38; 0,76; 1,14; 1,52; 3,80; 7,60; 11,40 и 15,20 мкг/см^3). Для этого 1, 2, 3, 4 см^3 стандартного раствора с концентрацией 0,001 М фторидов и 1, 2, 3, 4 см^3 стандартного раствора с концентрацией 0,01 М фторидов помещают в мерные колбы объемом 50 см^3. Объем до метки доводят дистиллированной водой. Каждый приготовленный стандартный раствор сравнения сразу переливают в полиэтиленовую емкость.

Разность электродных потенциалов измеряют в полиэтиленовых стаканах объемом 50 см^3, куда помещают магнит в полиэтиленовой оправе. Стакан помещают на магнитную мешалку, вносят в него 10 см^3 буферного раствора и 10 см^3 нулевого стандартного раствора, погружают электроды, включают магнитную мешалку и через 1 мин. записывают показания разности электродных потенциалов, которая соответствует начальной точке на *градуировочном графике*. После измерения содержимое стакана выливают, стакан и электроды ополаскивают дистиллированной водой и приступают к измерению следующего стандартного раствора сравнения. По результатам измерений строят график зависимости разности потенциалов (мВ) от содержания фторидов (мкг/10 см^3). Содержание фторидов в стандартных растворах сравнения – 0,0; 3,8; 7,6; 11,4; 15,2; 38,0; 76,0; 114,0; 152,0 мкг в 10 см^3.

Если при измерении растворов, концентрации которых различаются в 10 раз (pF меняется на 1), разность электродных потенциалов не изменяется на 56 ± 3 мВ, то фторидный электрод следует регенерировать в 0,001 М растворе фторида натрия в течение суток, а затем тщательно отмыть дистиллированной водой.

Содержание фторидов в почве вычисляют по формуле $F = C\,V / m$, где C – концентрация фторидов, найденная по градуировочному графику в мкг/10 см^3; V – объем разложенной и подготовленной к определению почвы (50 см^3); m – навеска почвы.

Определение содержания водорастворимых фторидов

Ход анализа

Навеску почвы 10 г помещают в полиэтиленовый стакан объемом 100 см^3, приливают 50 см^3 дистиллированной воды. Содержимое стакана взбалтывают, переливают в центрифужную пробирку и центрифугируют 15 мин. Отбирают аликвоту 10 см^3, добавляют 10 см^3 буферного раствора, погружают электроды, перемешивают раствор в течение 1 мин и измеряют разность электродных потенциалов.

Приготовление калибровочной шкалы и вычисление содержания фторидов в почве осуществляются так же, как описано выше (в подразделе «Общее содержание фторидов»).

Реактивы

1. Основной стандартный раствор фторида натрия: 0,1 М 4,1990 г фторида натрия (ГОСТ 4463), высушенного до постоянной массы при 105°С, растворяют в дистиллированной воде в мерной колбе вместимостью 1000 $см^3$. Значение pF = 1 (концентрация фторида 1,9 $мг/см^3$). Раствор хранят в полиэтиленовой емкости в течение 6 месяцев.

2. 0,01 М стандартный раствор фторида натрия: 50 $см^3$ основного стандартного раствора помещают в мерную колбу объемом 500 $см^3$ и доводят до метки дистиллированной водой. Раствор хранят не более двух недель в полиэтиленовой емкости.

3. 0,001 М стандартный раствор фторида натрия: 50 $см^3$ стандартного 0,01 М раствора фторида натрия помещают в мерную колбу объемом 500 $см^3$ и доводят до метки дистиллированной водой. Раствор хранят в полиэтиленовой емкости 1 – 2 недели.

4. 0,0001 М стандартный раствор фторида натрия: 10 $см^3$ стандартного 0,001 М раствора фторида натрия помещают в мерную колбу объемом 100 $см^3$ и доводят до метки дистиллированной водой. Раствор хранят 1 неделю в полиэтиленовой емкости.

5. Буферный раствор: в стакан объемом 1000 $см^3$ помещают 1 г трилона Б (ГОСТ 10652), 58 г хлорида натрия (ГОСТ 4223, «х.ч.»), 57 $см^3$ ледяной уксусной кислоты (ГОСТ 61 «х.ч.») и разбавляют дистиллированной водой до объема ≈ 700 $см^3$. Затем раствор нейтрализуют 50%-м раствором едкого натра до pH 5,8 и добавляют 10 $см^3$ 0,01 М раствора нитрата лантана и 3 $см^3$ 0,01 М раствора фторида натрия. Смесь переносят в мерную колбу объемом 1000 $см^3$ и доводят до метки дистиллированной водой. Раствор хранят в полиэтиленовой емкости в течение 2 месяцев;

6. 50%-й раствор едкого натра (ГОСТ 4327): 50 г реактива растворяют в 70 – 80 $см^3$ дистиллированной воды и доводят до объема 100 $см^3$;

7. 0,01 м раствор нитрата лантана: 3,2490 г безводного нитрата лантана растворяют в 500 $см^3$ дистиллированной воды, переносят в мерную колбу объемом 1000 $см^3$ и доводят водой до метки.

8. Кислота соляная (ГОСТ 3118, «х.ч.»), раствор в дистиллированной воде с массовой долей 5 М;

9. Аммоний углекислый (ГОСТ 3770), «х.ч.»;

10. Калий-натрий углекислый (ГОСТ 4332), «х.ч.»;

11. Вода дистиллированная.

Аппаратура, реактивы, материалы

1. Высокоомный pH-метр-милливольтметр типа pH-340, или иономер ЭВ-74.
2. Электрод вспомогательный лабораторный ЭВЛ-1 М3, ТУ 2710.005ЭЗ.
3. Электрод фторидный ЭГ-VI или любой другой с аналогичными характеристиками.
4. Электроды стеклянные лабораторные.
5. Электрическая муфельная печь.
6. Баня водяная лабораторная.
7. Центрифуга.
8. Шкаф сушильный или термостат.
9. Тигли никелевые по ГОСТу 492.
10. Чашки фарфоровые объемом 100 $см^3$ по ГОСТу 9147.

11. Колбы мерные объемом 50, 100, 500, 1000 см^3 по ГОСТу 1770.
12. Пипетки объемом 1, 2, 5, 10, 50 см^3 по ГОСТу 1770 и 20292.
13. Воронки для фильтрования лабораторные.
14. Фильтры «синяя лента».

Определение содержания фтора в почве фотометрическим методом с использованием ализаринкомплексона и нитрата церия

Метод основан на извлечении соединений фтора из почвы, получении окрашенного в синий цвет тройного комплексного соединения фтора с ализаринкомплексоном и нитратом церия и измерении оптической плотности раствора. Для устранения мешающих веществ из анализируемого раствора (почвенной вытяжки или разложенной и переведенной в раствор пробы почвы) соединения фтора отгоняют дистилляцией.

Общее содержание фтора в почве

Ход анализа

Навеску 1 г почвы помещают в фарфоровый тигель с крышкой, добавляют 5 г безводного карбоната натрия или смеси карбонатов натрия и калия и тщательно перемешивают. Уплотняют содержимое постукиванием тигля. Такую же навеску плавня используют в качестве холостой пробы. Смесь должна занимать не более половины объема тигля. Тигель закрывают крышкой и помещают в холодную муфельную печь и поднимают температуру до 600°С. Сплавление ведут до получения в тигле однородной жидкой массы. После охлаждения крышку тигля ополаскивают дистиллированной водой, которую вносят в тигель с плавом. Содержимое тигля выщелачивают водой и переносят в мерную колбу объемом 50 см^3. Доводят объем до метки и все содержимое помещают в отгонную колбу объемом 500 см^3, добавляют 50 см^3 концентрированной серной кислоты и 50 см^3 насыщенного раствора сульфата серебра. Отгонную колбу подсоединяют к холодильнику (собирают установку для дистилляции) и ведут отгонку при 125–135°С. В мерную колбу объемом 50 см^3 помещают 20–30 см^3 полученного дистиллята, приливают 5 см^3 0,0005 М раствора ализаринкомплексона, 1 см^3 ацетатного буферного раствора, 5 см^3 0,0005 М раствора нитрата церия, доводят до метки дистиллированной водой, перемешивают и оставляют в темноте на 1 час. Оптическую плотность растворов измеряют в кювете с толщиной просвечивающего слоя 5 см^3, при длине волны 615 нм или оранжевом светофильтре по отношению к холостой пробе.

Калибровочную шкалу строят в диапазоне концентраций от 0 до 50 мкг фторидов в 50 см^3. Для этого в ряд мерных колб объемом 50 см^3 помещают 0; 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 5,0 см^3 стандартного раствора с содержанием 10 мкг/см^3 фторид-иона. В колбы добавляют по 1 см^3 ацетатного буферного раствора и по 5 см^3 растворов ализарин-комплексона и нитрата церия. Объемы до метки доводят дистиллированной водой. Концентрация фторидов в рабочих стандартных растворах сравнения составляет 0; 5,0; 10,0; 20,0; 30.0; 50.0 мкг в 50 см^3. Далее поступают так же. как и при анализе проб.

Содержание фтора в почве вычисляют по формуле

$$F = \frac{C \cdot V_0 \cdot V_2}{m \cdot V_1 \cdot V_3},$$

где C – концентрация фтора, найденная по графику, в мкг/50 см^3; V_0 – объем разложенной пробы (50 см^3); V_1 – объем аликвоты дистиллята; V_2 – объем полученного дистиллята; V_3 – объем вытяжки, взятый для дистилляции; m – навеска почвы, г.

Определение содержания водорастворимых фторидов

Ход анализа

Навеску почвы 10 г помещают в полиэтиленовый стакан объемом 100 см^3, приливают 50 см^3 дистиллированной воды. Содержимое стакана взбалтывают, переливают в центрифужную пробирку и центрифугируют 15 мин. Отбирают аликвоту 25 – 30 см^3 и помещают в отгонную колбу. Добавляют 25 или 30 (в зависимости от аликвоты) см^3 серной кислоты и столько же насыщенного раствора сульфата серебра. Отгонную колбу подсоединяют к холодильнику (собирают установку для дистилляции) и ведут отгонку при 125 – 135°С. Далее поступают так, как описано в подразделе «Общее содержание фтора в почве».

Реактивы:

1. Основной стандартный раствор фтора с концентрацией 100 мкг/см^3: растворяют 0,2211 г фторида натрия (ГОСТ 4463) в дистиллированной воде в мерной колбе объемом 1000 см^3. Раствор хранят в полиэтиленовой емкости в течение 6 месяцев.

2. Рабочий стандартный раствор с концентрацией 10 мкг/см^3: 10 см^3 основного стандартного раствора фтора помещают в мерную колбу объемом 100см^3 и доводят до метки дистиллированной водой. Раствор хранят в полиэтиленовой емкости в течение недели.

3. Ацетатный буферный раствор с pH 4,6: 105 г ацетата натрия растворяют в небольшом количестве дистиллированной воды в мерной колбе вместимостью 1000 см^3, приливают 100 см^3 ледяной уксусной кислоты (ГОСТ 61, «х.ч.») и доводят дистиллированной водой до метки.

4. 0,0005 М раствор нитрата церия (III): 217,1 мг реактива ($Ce(NO_3)_3$ 6 H_2O) растворяют в дистиллированной воде и доводят объем до 1000 см^3.

5. 0,0005 М раствор ализаринкомплексона: 0,1927 г ализарин-комплексона растворяют в 50 – 100 см^3 дистиллированной воды в мерной колбе вместимостью 1000 см^3, добавляют немного 0,1 М раствора гидроксида натрия и разбавляют до ≈ 500 см^3 дистиллированной водой. Содержимое перемешивают, добавляют 0,25 г ацетата натрия и приливают по каплям 0,1 М раствор соляной кислоты до pH 5 (красная окраска переходит в желтую). Раствор доводят до метки дистиллированной водой.

6. Насыщенный раствор сульфата серебра: 1 г сульфата серебра растворяют в 100 см^3 дистиллированной воды и фильтруют.

7. Натр едкий (ГОСТ 4327), раствор в дистиллированной воде с массовой долей 0,1 М.

14. Кислота соляная (ГОСТ 3118 «х.ч.»), раствор в дистиллированной воде с массовой долей 0,1 М.

17. Кислота серная по ГОСТу 4204, «х.ч.».
22. Вода дистиллированная.

Аппаратура и материалы
1. Спектрофотометр, спектроколориметр или ФЭК.
2. Электрическая муфельная печь.
3. Центрифуга.
4. Тигли фарфоровые с крышками.
5. Прибор для отгонки кремнийфтористоводородной кислоты.
6. Колбы мерные объемом 50, 100, 1000 см^3 по ГОСТу 1770.
7. Пипетки объемом 1, 2, 5, 10, 25, 50 см^3 по ГОСТу 1770 и 20292.
8. Цилиндры мерные объемом 25, 50 см^3 по ГОСТу 1770.
9. Воронки для фильтрования лабораторные.
10. Фильтры «синяя лента».

Определение содержания хлоридов в почве методом ионометрического титрования

Метод основан на извлечении хлоридов из почвы водной вытяжкой и ионометрическом титровании хлоридов раствором азотнокислого серебра, в процессе которого ионы серебра связываются хлорид-ионами в труднорастворимое соединение. Для установления конечной точки титрования используют электродную пару, состоящую из индикаторного хлорид-селективного электрода и вспомогательного насыщенного хлорсеребряного электрода с электролитическим ключом, заполненным раствором азотнокислого калия.

Ход анализа

Навеску 30 г почвы помещают в коническую колбу объемом 500 см^3 и заливают 150 см^3 дистиллированной воды. Содержимое колбы взбалтывают в течение 3 мин и фильтруют через двойной складчатый фильтр «белая лента». Первые мутные порции вытяжки (5 – 10 см^3) отбрасывают. Если и дальше фильтрат будет мутным, то его фильтруют повторно.

Аликвоту водной вытяжки 5 – 20 см^3 помещают в стакан объемом 50 см^3 и добавляют 1 см^3 0,1 М раствора азотной кислоты. Бюретку заполняют 0,02 М раствором азотнокислого серебра. На блоке автоматического титрования (БАТ) устанавливают значение ЭДС конечной точки титрования, которую определяют предварительно.

Стакан с вытяжкой ставят на магнитную мешалку, погружают в раствор электродную пару и кончик дозирующей трубки, включают магнитную мешалку, затем блок автоматического титрования нажатием кнопок «Вкл.» и затем «Пуск» и титруют до заданного значения ЭДС. После того как загорится сигнальная лампа «Конец», определяют расход раствора азотнокислого серебра. По окончании титрования БАТ выключают в обратном порядке – сначала кнопку «Пуск», затем – «Вкл.».

Содержание хлоридов в мэкв/100г почвы вычисляют по формуле

$$Cl = \frac{(V - V_0) \cdot C \cdot 100 \cdot V_2}{m \cdot V_1},$$

где V – объем 0,02 М раствора азотнокислого серебра, пошедший на титрование анализируемой вытяжки, см^3; V_o – объем 0,02 М раствора азотнокислого серебра, пошедший на титрование холостой пробы, см^3; C – концентрация раствора азотнокислого серебра в ммоль/см^3 (0,02 ммоль/см^3); *100* – коэффициент пересчета на 100 г почвы; V_1 – аликвота вытяжки, см^3; V_2 – объем исходной вытяжки, см^3; m – навеска почвы, г.

Массовую долю хлоридов в почве (в %) вычисляют по формуле

$$Cl = A\ Э / 1000,$$

где A – содержание хлоридов в анализируемой почве, мэкв/100 г; Э – эквивалентная масса хлорид-иона (35,5); *1000* – коэффициент пересчета в граммы.

Реактивы

1. 0,02 М раствор азотнокислого серебра: 3,4 г нитрата серебра («х.ч.», ГОСТ 1277) растворяют в дистиллированной воде и доводят объем до 1000 см^3. Точную концентрацию устанавливают ионометрическим титрованием. Для этого готовят 0,01 М раствор хлористого натрия (хлорида натрия) из стандарт-титра (фиксанала). Аликвоту 10 см^3 приготовленного раствора хлористого натрия помещают в стакан объемом 50 см^3, добавляют 1 см^3 0,1 М раствора азотной кислоты. Заполняют бюретку раствором азотнокислого серебра. Устанавливают на БАТ значение ЭДС конечной точки титрования. Стакан с раствором ставят на магнитную мешалку, помещают в него магнит и включают БАТ. Титруют до заданного значения ЭДС. Значение ЭДС конечной точки титрования (мВ) определяют по формуле $ЭДС = E + 110$ *мВ*, где Е – это ЭДС (мВ) используемой для титрования электродной пары в 0,001 М растворе хлористого натрия. «Е» можно установить при титровании 0,001 М раствора хлористого натрия. Конечная точка титрования – середина скачка. Если БАТ подключен к самописцу, то конечную точку титрования находят графически. Для этого нужно найти точку максимального наклона на кривой, т.е. середину скачка титрования. Соответствующая этой точке величина потенциала электрода и будет служить конечной точкой титрования. Титрование проводят три раза и берут среднее арифметическое.

Концентрацию раствора хлористого натрия вычисляют по формуле $C = 0{,}01\ V / V_1$ (где *0,01* – концентрация раствора хлористого натрия, взятого для титрования; V – аликвота раствора хлористого натрия; V_1 – объем раствора азотнокислого серебра, пошедший на титрование). Конечную точку титрования выводят из результатов трех определений.

2. 1 М раствор азотнокислого калия для заполнения электролитического ключа: 101 г реактива растворяют в дистиллированной воде и доводят объем до 1000 см^3.

3. 0,01 М раствор хлористого натрия: 10 см^3 0,1 М раствора помещают в мерную колбу объемом 100 см^3 и доводят до метки дистиллированной водой.

4. 0,1 М раствор азотной кислоты: 33,3 см^3 концентрированной азотной кислоты (ГОСТ 11125, «ос.ч.») смешивают с 200–300 см^3 дистиллированной воды. Объем до 500 см^3 доводят дистиллированной водой.

5. Вода дистиллированная.

Аппаратура и материалы

1. Высокоомный pH-метр-милливольтметр типа pH-121, pH-340, или иономер ЭВ–74.
2. Электрод вспомогательный лабораторный хлоросеребряный с электролитическим ключом, заполненным 1 М раствором азотнокислого калия.
3. Электроды стеклянные лабораторные.
4. Хлорид-селективный электрод.
5. Блок автоматического титрования.
6. Магнитная мешалка.
7. Установка для потенциометрического титрования.
8. Стаканы объемом 50 см^3 по ГОСТу 25336.
9. Колбы конические объемом 500 см^3 по ГОСТу 25336.
10. Колбы мерные объемом 100, 500, 1000 см^3 по ГОСТу 1770.
11. Пипетки объемом 1, 5, 10, 20, см^3 по ГОСТу 1770 и 20292.
12. Цилиндр мерный объемом 50 см^3 по ГОСТу 1770.
13. Воронки для фильтрования лабораторные.
14. Фильтры «белая лента».

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЧВ

МЕТОДЫ ИЗМЕРЕНИЯ ИНТЕНСИВНОСТИ ДЫХАНИЯ ПОЧВЫ

Почвенный воздух имеет большое значение для почвенных процессов и роста растений. Он участвует в химических и биохимических процессах, протекающих в почве, оказывает влияние на окислительно-восстановительные условия в почве, ее реакцию и растворимость химических компонентов. Почвенный воздух важен для углеродного питания растений (более половины углекислого газа, идущего на формирование урожая сельскохозяйственных культур, потребляется растениями из почвы). Его состав изменяется во времени и по профилю почвы, зависит от внесения органических и минеральных удобрений, вида растений, биологической деятельности почвы, гидротермических условий и т. д.

В результате биологических процессов в почве поглощается кислород и выделяется углекислый газ, который идет на образование безазотистых органических веществ – углеводов:

$$6\,CO_2 + 6\,H_2O + 674\,ккал \rightarrow C_6H_{12}O_6 + 6\,O_2.$$

Выделение углекислого газа из почвы в атмосферу в процессе диффузии зависит от продуцирования CO_2 почвой, ее физических и химических свойств, гидротермических условий. Решающая роль в

продуцировании углекислого газа почвой принадлежит биологическим факторам, поэтому выделение CO_2 из почвы может характеризовать интенсивность биологических процессов в ней.

Газовый режим почвы складывается из следующих показателей: содержания воздуха в почве, его состава, аэрации и интенсивности выделения газов (CO_2, N_2O, NO_2, NH_3). Определения проводят каждые 15 дней или приурочивают к фазам развития растений. Одновременно ведут наблюдения за давлением и температурой воздуха и почвы.

Все методы определения дыхания почвы можно разделить на 3 группы:
1. Методы обогащения CO_2 в изолирующем устройстве (колоколе и др.): определяются начальная и конечная концентрации CO_2 в воздухе изолятора, установленного на поверхности почвы (Макаров, 1957).
2. Методы проветривания: ток воздуха протягивается через изолятор (колокол, цилиндр), поставленный на поверхность почвы, и углекислый газ непрерывно поглощается.
3. Методы абсорбции: под изолятор над почвой помещается сосуд со щелочью, которая непрерывно адсорбирует CO_2 (Штатнов, 1952).

Упрощенные методы определения интенсивности дыхания почвы основаны на учете количественных изменений углекислого газа в окружающем воздухе с помощью широкогорлых конических колб (Маштаков и др., 1954; Макаров и др., 1957).

Метод «колб» имеет недостаток. Так как дыхание почвы происходит в замкнутом пространстве, внутри колбы уменьшается парциальное давление кислорода и нарушается газообмен.

А.Ш. Галстян предложил для устранения этого недостатка соединить колбу, где происходит дыхание почвы, с наружным воздухом с помощью трубки с натроновой известью.

Адсорбционый метод определения углекислого газа, выделившегося из почвы, позволяет вести наблюдение непосредственно в поле сразу на нескольких вариантах опыта. Эти методы предложены Штатновым, Миной и Карпачевским.

Недостаток применяющихся вариантов метода Штатнова и Мины в том, что они не учитывают двух факторов, влияющих на результат определения.
1. При отсутствии перемешивания жидкости в поглотителе сорбция CO_2 щелочью быстро затухает.
2. Поглощение CO_2 зависит от площади поглотителя; так как расчет в адсорбционном методе Штатнова ведется на изолированную площадь, то чем меньше площадь поглотителя, тем меньше получается интенсивность выделения CO_2. В.Н. Мина рекомендовал брать поглотитель с площадью, близкой изолированной поверхности почвы. Однако расчет выделения

CO_2 из почвы показал, что поглощение зависит не от площади изоляции, а только от площади поглотителя.

Л.О. Карпачевский предложил учитывать только площадь поглотителя и определение проводить непосредственно в поле.

Определение интенсивности выделения углекислого газа из почвы (метод Галстяна)

Метод основан на определении интенсивности дыхания почвы по учету количественных изменений углекислого газа в атмосфере почвы с помощью широкогорлых конических колб (рис. 21).

Ход анализа

10 г свежей почвы в марлевом мешочке подвешивают за крючок в пробке (при анализе влажной почвы используют металлические корзинки). В плоскодонную колбу на 250 $см^3$ наливают 25 $см^3$ 0,025 М раствора гидрата окиси бария. Колбу закрывают пробкой с мешочком и помещают в термостат при температуре 28 – 30°С на 24 ч.

Одновременно с опытными колбами ставят контрольные с гидратом окиси бария, но без почвы для учета углекислого газа воздуха в колбе. Колбы периодически встряхивают для разрушения образовавшейся пленки карбоната бария. После экспозиции избыток гидрата окиси бария оттитровывают 0,05 М раствором HCl по фенолфталеину.

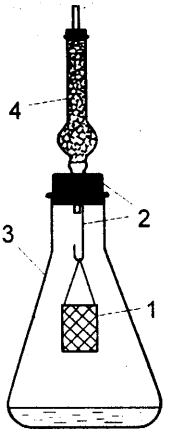


Рис. 21. Прибор для определения дыхания почвы:

1 – марлевый мешочек с почвой;
2 – пробка с металлическим крючком;
3 – широкогорлая колба на 250 $см^3$;
4 – трубка с натронной известью

По разнице между данными титрования контрольной и опытной почвы определяют количество выделившегося углекислого газа.

Интенсивность продуцирования выражают в миллиграммах углекислого газа, выделившегося за сутки на 100 г почвы.

Реактивы

1. 0,05 М раствор $Ba(OH)_2 \cdot 8H_2O$: 15,8 г гидрата окиси бария растворяют в 1 $дм^3$ дистиллированной воды.
2. 0,05 М HCl: 4,1 $см^3$ HCl (d = 1,19) растворяют в 1 $дм^3$ дистиллированной воды.
3. Фенолфталеин – 1% спиртовый раствор.

Определение содержания выделившегося CO_2 по Карпачевскому

Этот метод позволяет определить углекислый газ, выделившийся из почвы непосредственно в полевых условиях.

Ход анализа

Стеклянные стаканчики на 50 $см^3$ диаметром 4 – 6 см (измерить микрометром для последующего расчета площади поверхности жидкости). Приливают пипеткой 2 $см^3$ 0,1 М раствора КОН. Стаканчики ставят на поверхность почвы опытного участка, секундомером отмечают время начала опыта.

Через 20 мин раствор в стаканчиках оттитровывают из микробюретки 0,05 М H_2SO_4 по фенолфталеину.

Расчет углекислого газа (в кг/га) производят по формуле

$$CO_2 = \frac{(а - б) \cdot M \cdot 0{,}22 \cdot 10^8 \cdot 60}{C \cdot 10^3 \cdot 20} = \frac{(а - б) \cdot M \cdot 66}{C},$$

где *а* – количество H_2SO_4, пошедшее на титрование контроля (2 $см^3$ щелочи), $см^3$; *б* – количество кислоты, пошедшее на титрование опытного образца, $см^3$; *M* – молярность кислоты; *C* – площадь поглотителя, $см^2$; *0,22* – количество CO_2, эквивалентное 1 $см^3$ 0,01 М кислоты; *20* – время экспозиции, мин; *60* – для пересчета на 1 час; 10^8 – множитель для пересчета площади на 1 га; 10^3 – множитель для пересчета в кг.

Реактивы

1. 0,1 М КОН: 5,6 г едкого калия растворяют в дистиллированной воде. доливают до 1 $дм^3$.
2. 0,1 H_2SO_4: 2,8 $см^3$ H_2SO_4 (d 1,84) вливают в 500 $см^3$ дистиллированной воды, доливают до 1 $дм^3$, перемешивают.
3. 1% раствор фенолфталеина в спирте.

Измерение интенсивности дыхания почвы камерным статическим методом

Данный метод относится к полевым методам определения газообмена CO_2 в системе «почва – растение – атмосфера» и предусматривает измерение скорости накопления CO_2 внутри изолятора, врезаемого в почву на глубину 5 – 10 см (рис. 22). Поток CO_2 из почвы в атмосферу *F* обычно рассчитывают по упрощенной формуле

$$F = (C - C_0) \cdot V/t \cdot s = (C - C_0) \cdot H / t, \qquad (I)$$

где C – концентрация определяемого газа в момент времени t; C_o – исходная концентрация газа; s – площадь камеры (изолятора); V – объем камеры; H – высота камеры; t – время экспозиции.

Согласно формуле *(I)* концентрация газа внутри камеры при постоянстве F увеличивается линейно со временем, т. е. предполагается, что внутренний объем камеры изолирован от окружающей среды. Однако в реальной ситуации имеет место процесс диффузного газообмена между внутренним объемом камеры и локальной припочвенной атмосферой. Этот процесс обусловлен наличием градиента концентрации газов между камерой и внешней средой. Уравнение материального баланса для этого процесса имеет вид

$$VdC/dt = Fs - Ds \cdot (C - C_o) / z, \qquad (II)$$

где F – поток газа из почвы в атмосферу; z – глубина, на которую камера врезана в почву; D – коэффициент диффузии газа в почве; t – время.

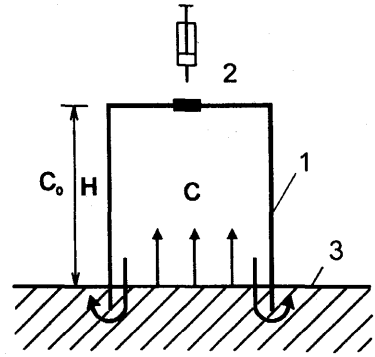


Рис. 22. Схема измерения интенсивности дыхания почвы камерным статическим методом:

1 – изолятор цилиндрической формы из тонкой листовой стали (высота H = 20 – 30 см, диаметр 15 – 30 см, глубина врезания 5 – 10 см); 2 – резиновая прокладка для отбора проб воздуха; 3 – поверхность почвы

Интегрирование соотношения (II) при граничных условиях $t = 0$ и $C - C_o$ дает

$$C = C_o + F/D'[1 - exp(-D't/H)], \qquad (III)$$

где $D' = D/H$.

Несложный методический прием позволяет практически использовать выражение *(III)* для нахождения истинной скорости эмиссии газа из почвы. Для этого отбор газовых проб производят в динамике немедленно после установки изолятора (C_o) и дважды через равные промежутки времени τ (C_1 и C_2). Величину τ выбирают таким образом, чтобы она соответствовала началу замедления накопления газа в камере. В соответствии с *(III)*

$$C_1 = C_o + F/D'[1 - exp(-D'\tau/H)], \qquad (IV)$$

$$C_2 = C_o + F/D'[1 - exp(-2D'\tau/H)]. \qquad (V)$$

Вычитая *(IV)* из *(V)*, получаем $C_2 - C_1 = (C_1 - C_o)\, e^{-D'\tau/H}$. Последующие преобразования приводят к формулам, позволяющим рассчитать D' и F по значениям C_o, C_1 и C_2:

$$D' = - H / \tau \cdot ln[(C_1 - C_o) / (C_2 - C_1)], \qquad (VI)$$

$$F = D' (C_1 - C_o) / [1 - exp(- D'\tau / H)]. \qquad (VII)$$

Оборудование:

1. Газовый хроматограф.
2. Изолятор из стали; пенициллиновые флаконы.
3. Шприцы объемом 20 и 1 см^3.

Ход анализа.

Изолятор врезают в почву и отбирают пробы воздуха через прокладку (*2*) объемом 20 см^3 немедленно после установки изолятора, а затем на 10-й и 20-й минуте экспозиции. Пробы воздуха переносят в предварительно вакуумированные (– 1 атм.) пенициллиновые флаконы объемом 15 см^3. Флаконы хранят до газохроматографического (ГХ) анализа в контейнере с внешним водяным затвором (рис. 23). ГХ-анализ проводят в лаборатории. Пробы воздуха объемом 1 см^3 отбирают из пенициллинового флакона и вводят в газовый хроматограф. Полученные величины концентрации CO_2 в воздухе C_o, C_1 и C_2 подставляют в уравнения (VI) и (VII), рассчитывая числовые значения F – истинной скорости выделения CO_2 из почвы в атмосферу.

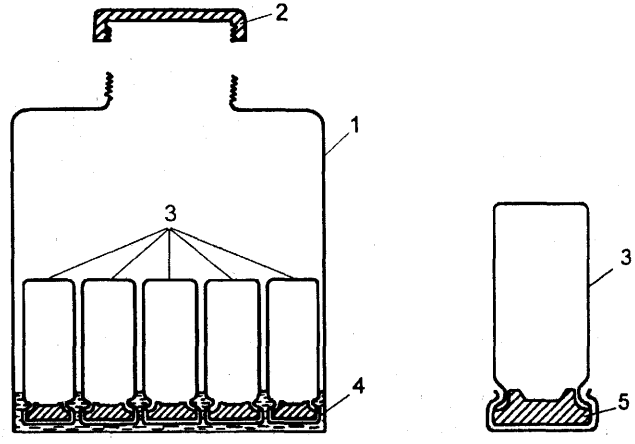


Рис. 23. Хранение проб воздуха перед ГХ-анализом:
1 – пластиковый контейнер емкостью 0,5 – 2 дм^3;
2 – завинчивающаяся крышка;
3 – пенициллиновые флаконы с пробами воздуха; 4 – слой воды;
5 – резиновая пробка, фиксированная металлическим зажимом.

МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ АЗОТФИКСАЦИИ В ПОЧВЕ

Фиксация молекулярного азота – одна из главных функций микроорганизмов в биосфере Земли. Благодаря ей, был создан и ныне поддерживается азотный статус всех наземных и водных экосистем. Несмотря на успехи в производстве минеральных азотных удобрений, свою потребность в азоте человечество более чем на 2/3 покрывает за счет его биологических источников.

Определение интенсивности азотфиксации в конкретных местообитаниях азотфиксирующих микроорганизмов (диазотрофов), необходимое для выяснения размеров поступления «биологического» азота в почвы разных типов, – важная задача почвенной микробиологии. Активность азотфиксации является одним из интегральных показателей биологической активности почв и поэтому широко используется для ранней диагностики загрязненности почв тяжелыми металлами, ядохимикатами, ксенобиотиками, применяется при санитарно-гигиеническом нормирова-нии токсических веществ в почве. Этот показатель может быть информативен при оценке пространственной и временной неодно-родности (пестроты) почв, при выяснении реакции бактериального населения почв на внесение минеральных и органических удобрений, на различные способы обработки пашни и пр.

Способностью к азотфиксации обладают только бактерии. Микроорганизмы-эукариоты (грибы, дрожжи, водоросли), а также растения и животные фиксировать молекулярный азот не могут.

Тем не менее, они своей деятельностью создают благоприятные условия для процесса азотфиксации: снабжают бактерии легкодоступными источниками питания, понижают концентрацию O_2 вокруг них, быстро утилизируют связанный ими азот. Поэтому, как правило, азотфиксация протекает в системах прокариотных и эукариотных организмов, которые и являются основными объектами исследования при изучении азотфиксации в почве. Принято различать актуальную (полевую) и потенциальную активность азотфиксации н почве.

Актуальная активность измеряется при конкретных сочетаниях экологических факторов для изучаемой системы и характеризует реальную интенсивность процесса в определенный момент времени.

Потенциальная активность измеряется при оптимуме влажности и температуры и при избытке источника питания, вследствие чего является показателем максимально возможного для данной системы уровня азотфиксации.

Ацетиленовый метод

Нитрогеназа – азотфиксирующий ферментный комплекс диазотрофных бактерий – способна восстанавливать не только молекулярный азот до аммиака, но и ряд других соединений, имеющих в молекуле тройную связь, в частности ацетилен. Катализируемая нитрогеназой

реакция восстановления молекулярного азота описывается следующим уравнением: $N_2 + 6H^+ + 6e \rightarrow 2NH_3$ *(I)*

Наиболее важным преимуществом использования ацетилена в качестве субстрата для нитрогеназы является то, что единственным конечным продуктом реакции является этилен:

$$C_2H_2 + 2H^+ + 2e \rightarrow C_2H_4 \qquad (II)$$

Константа Михаэлиса (K_M) для реакции восстановления ацетилена примерно в 10 раз ниже, чем для редукции N_2, а растворимость C_2H_2 почти в 60 раз выше, чем азота (при 20°С и 1 атм. в 1 дм^3 воды растворяется около 1000 см^3 C_2H_2 и только 15 см^3 N_2). Вследствие этого при наличии в газовой фазе уже 5% ацетилена восстановление молекулярного азота полностью тормозится и протекает только образование этилена.

Как следует из уравнений реакций I и II, фиксации 1 молекулы азота соответствует образование 3 молекул этилена, и, следовательно, коэффициент пересчета от C_2H_2-редукции к N_2-фиксации равен 3. Этилен анализируется на газовом хроматографе; при этом чувствительность обнаружения нитрогеназы составляет 10^{-12} М, что более чем в 10^6 выше по сравнению с методом Кьельдаля и в 10^3 выше изотопного (^{15}N) метода.

Особенности ацетиленового метода

Инкубация с ацетиленом предполагает в качестве обязательного условия быстрое и равномерное перемешивание газов в исследуемой системе. Последней может быть образец почвы нарушенного или естественного (монолит) сложения, участок почвы известной площади, вегетационный сосуд с растениями и пр. Благодаря хорошей растворимости ацетилена в воде это условие хорошо выполняется для водных и песчаных культур растений, для почв легкого механического состава. Более сложно протекает газообмен в почвах тяжелого механического состава и в переувлажненных почвах, что приводит к недооценке реальной интенсивности азотфиксации. Одним из способов усиления газообмена является принудительная подача ацетилена в толщу почвы.

Длительность инкубации с ацетиленом оказывает значительное влияние на результаты определения азотфиксации. Так, при длительной (более 2 ч) инкубации наблюдаются значительные отклонения коэффициента пересчета от теоретического. Произвольное увеличение времени инкубации в атмосфере ацетилена – наиболее распространенная ошибка при использовании ацетиленового метода. Чаще всего прибегают к этому в попытке повысить чувствительность обнаружения этилена, особенно при низкой интенсивности азотфиксации. Нередко образцы инкубируют в течение 12 – 24 ч и более. Другой причиной увеличения времени инкубации является желание проводить измерения этиленогенеза в области линейного возрастания ацетиленредукции, наблюдающейся после своеобразной *лаг*-фазы длительностью 6 – 24 ч, в течение которой про-

исходит «перестройка» популяций азотфиксирующих бактерий, формируется новое их сообщество, не характерное для исходного образца.

Длительная инкубация с ацетиленом оказывает и ряд других воздействий на азотфиксирующую систему. Это проявляется в форме вторичной реакции растений и микроорганизмов на изменение температуры и повышение концентрации CO_2 в замкнутом объеме инкубационной камеры (парниковый эффект). Наиболее значимо это при изучении азотфиксации в системе почва – растение, в которой при длительной инкубации создаются условия, способствующие усилению микробной активности. Стимуляция их происходит как из-за патологической реакции растений и микроорганизмов на присутствие ацетилена и этилена, так и в результате активизации фотосинтеза.

Следовательно, первым общим правилом при использовании ацетиленового метода является сведение к минимуму времени инкубации азотфиксирующих систем в атмосфере ацетилена: в зависимости от конкретных задач исследования время инкубации может составлять от 15 – 30 мин до 1 – 1,5 ч и не должно превышать 2 ч. Второе условие – контроль за неспецифическим образованием этилена. Этилен образуется многими почвенными грибами и бактериями, выделяется корнями растений, постоянно присутствует в техническом ацетилене. Он нередко обнаруживается в воздухе лабораторных помещений, где источниками его являются пламя газовых горелок и спиртовок, а также разрушающиеся на свету или при нагревании резина и полиэтилен.

В почве интенсивность неспецифического этиленогенеза зависит от ее свойств: почвы, богатые органическим веществом, выделяют этилен в наибольших количествах. Повышенному образованию этилена способствует избыточное увлажнение. Напротив, азотные удобрения, соединения железа и марганца тормозят этиленообразование в почве.

Помимо выделения этилена в почве постоянно протекает и его поглощение – путем адсорбции и главным образом за счет окисления микроорганизмами, многие из которых способны использовать этилен в качестве единственного источника энергии или в процессе соокисления. Однако при наличии ацетилена в газовой фазе почв деятельность таких микроорганизмов резко тормозится и окисление этилена полностью прекращается уже при содержании C_2H_2 в 0,0001 атм. Следовательно, окислением C_2H_4 в почве при использовании ацетиленового метода можно пренебречь, поскольку K_M для C_2H_2-редукции у азотфиксирующих бактерий колеблется в пределах от 0,1 до 0,75 атм., что заведомо превышает ингибирующую концентрацию.

Таким образом, вторым общим правилом получения достоверной информации при применении ацетиленового метода является точная оценка размеров неспецифического этиленогенеза и величины адсорбции его в почве. Последнее особенно необходимо учитывать при ис-

следовании сильногумусированных почв и почв с тяжелым механическим составом.

Среди других причин, влияющих на точность результатов при применении ацетиленового метода, выделяются следующие:

1. Этилен, являясь мощным гормоном растений, может существенно менять их метаболизм, что в свою очередь будет влиять на активность азотфиксации у симбиотических и ассоциативных микроорганизмов.
2. Отсутствие механизма «обратной связи» при использовании ацетилена в качестве субстрата для нитрогеназы может быть причиной завышения реальной интенсивности азотфиксации.
3. Постоянная высокая насыщенность почв молекулярным азотом предопределяет отсутствие торможения азотфиксации из-за дефицита субстрата для нитрогеназы. В то же время затрудненное проникновение ацетилена в микрозоны почвы может стать причиной существенной недооценки реальной интенсивности азотфиксации.

Газохроматографический анализ может проводиться на хроматографах любой конструкции, снабженных пламенно-ионизационным детектором. В качестве газа-носителя применяют азот марки «особо чистый» (ТУ 6-21-27) или аргон той же марки (ГОСТ 10157). Для питания пламенно-ионизационного детектора необходимы H_2 и воздух, тщательно очищенные от пыли. Водород можно получать из генераторов водорода, например, типа СГС-2.

Хроматографическая колонка прибора должна обеспечивать четкое разделение и «линейность» пиков следующих газов: CH_4, C_3H_8, C_2H_2 и C_2H_4. Метан нередко присутствует в почвенном воздухе, а пропан используется в качестве внутреннего стандарта.

При анализе методом газоадсорбционной хроматографии для наполнения колонок используют силикагель, сферосил, молекулярные сита. При газожидкостной хроматографии твердыми носителями могут быть силикагель, кизельгур, бентонит, а в качестве стационарной фазы – высококипящие эфиры.

Перед началом работы прибор эталонируют чистым этиленом в различных разведениях и пропаном в тех же разведениях, а затем их смесью в определенных пропорциях. Хронометрируют процесс удержания каждого газа, измеряют высоту (более точно – площадь) хроматографических пиков и рассчитывают «цену деления» прибора, Одновременно фиксируют рабочие параметры хроматографа: температуру термостата и камеры впрыска, давление и скорость подачи газа-носителя, водорода и воздуха – все они должны оставаться постоянными при повторных включениях прибора.

Объем вводимой в прибор пробы газа обычно составляет 0,5 – 1,0 $см^3$. Для ее введения чаще всего используют медицинские шприцы на 0,5 – 1,0 $см^3$ (туберкулиновые или инсулиновые) с силиконовыми уплотнительными кольцами на поршне. Специально для газохроматографического анализа выпускают микрошприцы типа ММ и др. Шприцы других типов менее пригодны, так как не обеспечивают необходимой герметичности в момент введения пробы в ток газа-носителя, находящегося под значительным (3 – 5 атм.) давлением. Для обеспечения полного введения пробы в камеру впрыска необходимо следить за состоянием эластичной мембраны, через которую вводится проба.

Определение количества этилена и пропана в пробе проводят путем измерения высоты их пиков на ленте самописца или же по показателям интегратора, если им оснащен газовый хроматограф. В последнем случае достигается большая точность, поскольку интегратор определяет площадь, очерченную кривой каждого пика.

Однако интегратор дает большие ошибки при измерении пиков малой высоты и при максимальной чувствительности прибора.

Обычно удается избежать заметных ошибок при измерении высоты пиков путем подбора таких режимов работы, когда пики «вырождаются» в прямые линии.

Окончательные расчеты проводят с учетом чувствительности прибора к этилену и пропану, объема введенной пробы, объема инкубационной камеры (если она постоянна) и коэффициента пересчета от этилена к азоту. Весьма ответственная фаза анализа состоит в правильной экстраполяции во времени и в пространстве полученных данных, поскольку возможно многократное увеличение ошибок, допущенных в ходе анализа. Нередко расчет продуктивности азотфиксацни проводят на основе нерепрезентативной выборки, полученной без учета временной динамики процесса и его пространственной неоднородности.

Реактивы

1. Ацетилен технический в баллонах.
2. Этилен и пропан хроматографически чистые для эталонирования прибора.
3. Карбид кальция CaC_2.

Оборудование

1. Газовый хроматограф с пламенно-ионизационным детектором.
2. Аргон, водород в баллонах или генератор водорода типа СГС-2.
3. Сжатый воздух из компрессора с ресивером или из баллона.
4. Шприцы медицинские туберкулиновые или инсулиновые на 0.5 – 1,0 $см^3$, а также объемом 15 – 20 $см^3$.
5. Флаконы пенициллиновые с пробками и зажимами к ним.
6. Разовые колпачки из алюминия и закаточная машинка.
7. Приборы для полевого определения азотфиксации.

Определение потенциальной активности азотфиксации

Ход анализа

Потенциальную активность азотфиксации определяют в свежеотобранных или воздушно-сухих образцах почв. Для этого 5 г освобожденной от корешков и просеянной через сито с диаметром ячеек 1 мм почвы помещают в пенициллиновый флакон, вносят 2% глюкозы (от массы абсолютно сухой почвы) и увлажняют стерильной водопроводной водой до влажности примерно 80% от полной влагоемкости. Почву тщательно перемешивают до получения однородной по влажности массы, закрывают флакон ватной пробкой и инкубируют в течение суток при 28°С.

Из каждого почвенного образца отбирают не менее трех навесок для определения потенциальной активности азотфиксации. Через сутки инкубации в термостате флакон закрывают резиновой пробкой и вводят внутрь шприцем приблизительно 0,5 $см^3$ ацетилена, после чего вновь помещают в термостат на 1 ч. По истечении этого срока шприцем отбирают пробу газовой смеси из флакона объемом точно 1 $см^3$ и вводят ее и газовый хроматограф. Так же измеряют содержание этилена в двух других флаконах.

♦ Кроме того, в дополнительной навеске проводят контрольное определение неспецифического выделения этилена, для чего флакон с почвой инкубируют без введения ацетилена.

♦ Определяют также содержание этилена в ацетилене. Величину неспецифического образования этилена и содержание его в ацетилене учитывают при окончательных расчетах.

Среднее значение активности азотфиксации для трех параллельных проб и характеризует потенциальную активность азотфиксации в изучаемой почве. Ее выражают в миллиграммах или микрограммах фиксированного азота на килограмм почвы за час (мг/кг/ч).

Потенциальную активность азотфиксации в филлосфере определяют, помещая срезанные листья или стебли в герметичные флаконы объемом 15 – 20 $см^3$, содержащие по 3 $см^3$ среды Эшби со смешанным набором углеводов (глюкозы, мальтозы, маннита, яблочной кислоты), примерно соответствующим составу экскретов из листьев. Инкубируют 2 ч при 28°С, после чего во флаконы вводят 0,5 – 1,0 $см^3$ ацетилена и инкубируют еще 1 ч. Как и для образцов почвы, определение ведут на трех параллельно взятых образцах. Учитывают также содержание этилена в ацетилене и неспецифический этиленогенез.

Окончательные расчеты ведут для трех образцов. Потенциальную активность азотфиксации в филлосфере выражают в миллиграммах или микрограммах фиксированного азота на кв. дециметр почвы за час ($мг/дм^2$/ч). Поэтому для одной пробы рассчитывают среднюю величину поверхности листьев или стеблей при помощи планиметра или наложением на миллиметровую бумагу. Расчет активности азотфиксации на массу

образца менее точен, поскольку не учитывает характера строения листьев и стеблей разных видов растений.

Указанный метод пригоден и для определения потенциальной активности азотфиксации в ризоплане растений. Образцами при этом служат кусочки тщательно отмытых корней, которые инкубируют 2 ч в среде Эшби со смешанным набором углеводов при 28°С, после чего вводят ацетилен на 1 ч. Результаты выражают в мг фиксированного азота на единицу массы корней за час.

МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ ДЕНИТРИФИКАЦИИ В ПОЧВЕ

Денитрификация – микробиологический процесс, играющий важную роль в азотном балансе почв. Существуют различные приемы оценки денитрифицирующей активности почвы. Широко известным способом определения активности денитрификации в почве является метод балансовых расчетов с определением концентрации азота в почве перед началом инкубации почвы и после ее окончания. При этом пользуются традиционными методами определения азота в почве (метод Кьельдаля), что делает определение очень трудоемким, непроизводительным и малопригодным для массовых анализов. Способ определения денитрифицирующей активности почвы путем измерения концентрации нитратов в почве с помощью ионоселективных электродов является производительным, но малочувствительным методом, что делает определение активности денитрификации в почве неточным. Способ с применением изотопа ^{15}N требует наличия специальной техники для его фракционирования. В практике микробиологических исследований широкое применение получили газохроматографические методы определения активности денитрификации по скорости эмиссии газообразных продуктов денитрификации из почвы.

Самым распространенным приемом для оценки денитрифицирующей активности почвенных микроорганизмов является метод, основанный на использовании ацетилена в качестве ингибитора редуктазы закиси азота, что позволяет судить об активности процесса по накоплению закиси азота (N_2O) в газовой фазе:

$$NO_3 \rightarrow NO_2 \rightarrow NO \rightarrow N_2O \rightarrow N_2$$
$$\uparrow$$
$$C_2H_2$$

Этот метод позволяет определять активность денитрификации у чистых культур микроорганизмов и в почве.

Определение потенциальной активности денитрификации

Ход анализа

Навеску почвы 5 г, предварительно освобожденной от инородных включений, помещают во флакон объемом 15 см^3. Образец почвы увлажняют 6 см^3 водного раствора глюкозы и нитрата калия из расчета 2,5 мг

глюкозы на 1 г почвы и 0,3 мг азота нитрата калия на 1 г почвы. Флаконы закрывают резиновыми пробками, фиксируют стальными зажимами и промывают инертным газом (аргон или гелий; P=1 атм.) в течение 30 с.

В каждый флакон вводят 1,5 $см^3$ ацетилена, предварительно отобрав из флакона адекватный объем газа. Флаконы встряхивают в течение 30 – 60 с, переворачивают пробкой вниз и инкубируют при 28°С в течение 24 ч. По истечении этого времени ведут анализ газовой пробы на газовом хроматографе.

♦ Перед началом анализа флаконы тщательно встряхивают.

Реактивы

1. Закись азота в баллоне для эталонирования прибора.
2. Глюкоза.
3. Нитрат калия.

Оборудование

1. Газовый хроматограф с детектором по теплопроводности или с электронным захватом.
2. Гелий в баллонах.
3. Шприцы для газовой хроматографии.
4. Флаконы объемом 250 и 15 $см^3$.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ НИТРИФИЦИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ ПОЧВЫ

Активность протекания нитрификации является важным показателем микробиологического состояния почвы. Высокая нитрифицирующая активность характерна для окультуренных почв, в которых достаточное содержание азота, хорошая аэрация, реакция среды близка к нейтральной. Эти условия благоприятны для роста большинства сельскохозяйственных растений, и поэтому интенсивность нитрификации указывает на хорошую окультуренность почвы. Вместе с тем активное протекание нитрификации в почвах крайне нежелательно, так как ведет к потерям азота в форме нитратов, вымывающихся из почвы в грунтовые воды, газообразных соединений и к повышению содержания нитратов в сельскохозяйственной продукции.

Один из подходов в изучении процесса нитрификации заключается в компостировании почвы и измерении количества образовавшихся нитратов. Существуют различные модификации метода компостирования для определения нитрифицирующей способности почвы.

В изложенной методике проведено уточнение ряда параметров (количество вносимого азота, длительность, инкубации), она позволяет определить вклад автотрофных и гетеротрофных нитрифицирующих микроорганизмов в образование нитратов, изучать газовую фазу над почвой. Метод можно использовать для массовых анализов.

Ход анализа

Готовят смешанный образец почвы, просеивают его через сито с диаметром отверстий 2 мм. Затем в пенициллиновые флаконы помещают навески почвы по 4 – 5 г, увлажняют ее до 60 – 80% от полевой влагоемкости и инкубируют при 26 – 30°С в течение 18 – 21 суток во влажной камере (влажность контролируется периодическим взвешиванием флаконов).

Для определения потенциальной нитрифицирующей активности в часть флаконов одновременно с увлажнением вносят сульфат аммония в концентрации 100 – 200 мкг N – NH_4/г почвы и в часть – пептон в концентрации 10 – 30 мг/г почвы и тщательно перемешивают.

Для оценки интенсивности автотрофной и гетеротрофной нитрификации в образцы дополнительно вносят и также тщательно перемешивают 4-амино,1,2,4-триазол 20 – 200 мкг/г или 2-хлор-6-трихлорметилпиридин (нитрапирин) 10 – 30 мкг/г почвы.

Схема постановки опыта: 1) почва; 2) почва + сульфат аммония; 3) почва + пептон; 4) почва + ингибитор нитрификации (аминотриазол или нитрапирин); 5) почва + сульфат аммония + ингибитор нитрификации; 6) почва + пептон + ингибитор нитрификации.

Количество нитратов и аммония измеряют в исходной почве на 3–6, 9–12, 18–21-е сутки и ионселективными электродами, приготовив почвенную суспензию или отцентрифугированную почвенную вытяжку.

Во флаконы приливают по 5 $см^3$ 0,5 н. раствора ацетата магния, взбалтывают на качалке 30 мин, вытяжку центрифугируют при 2500 оборотах в минуту в течение 15 мин и в центрифугате определяют содержание ионов нитрата и аммония и затем проводят соответствующие подсчеты для почвы. При измерении только нитратов можно использовать водную вытяжку.

Каждый вариант опыта закладывают не менее чем в 9 флаконах для проведения измерения в 3-кратной повторности в 3 срока.

Интенсивность (скорость и масштабы) гетеротрофной нитрификации устанавливают по накоплению нитратов за определенное время в образцах с ингибитором нитрификации, автотрофной – по разнице в количестве нитратов в почве без ингибиторов нитрификации и с ними.

Для изучения газовой фазы флаконы периодически закрывают резиновыми пробками с зажимами для отбора газообразных продуктов, которые анализируют на хроматографе (двуокись углерода, кислород, окислы азота).

В агрохимических исследованиях степень нитрификации азота аммонийного удобрения в почве рассчитывают по формуле

$$H = \frac{N - NO_3^-}{N\text{-}NO_3^- + N\text{-}NH_4^+} \cdot 100\%,$$

где $N–NO_3$ – содержание нитратного азота (мкг/г), за вычетом нитратного азота в неудобренном варианте почвы; $N–NH_4^+$ – содержание аммонийного азота (мкг/г) в почве за вычетом содержания аммонийного азота в неудобренном варианте. При оценке нитрифицидной активности различных препаратов можно применять показатель их эффективности действия

$$И = \frac{Н_У - Н_И}{Н_У} \cdot 100\%,$$

где $Н_У$ – степень нитрификации азота на варианте с удобрением, $Н_И$ – степень нитрификации азота на варианте с ингибитором нитрификации.

Определение нитрифицирующей способности почвы по Кравкову

Почти весь азот почвы находится в форме органических веществ (перегной, бактерии, корни и пожнивные остатки растений). На долю минерального азота почвы приходится не более 1 – 3% от общего его количества. Наряду с поступлением в почву окисленного или связанного в виде аммиака азота с осадками, удобрениями и фиксированного микробами в почве идет минерализация органических азотсодержащих соединений при определенных условиях. Только с помощью микроорганизмов происходит переход азота из органических соединений в минеральный азот.

Распад органического вещества под влиянием грибов и бактерий с выделением азота органического вещества в форме аммиака называется аммонификацией.

Но аммиак при помощи бактерий-нитрификаторов может быть переведен сначала в азотистую, а затем в азотную кислоту. Этот процесс называется нитрификацией. Нейтрализуясь, азотная кислота образует в почве селитру.

Аммоний в почве, как правило, находится в поглощенном состоянии. Доля аммония в почвенном поглощающем комплексе невелика и зависит от общей емкости катионного объема.

Нитраты не адсорбируются почвой и не связываются химически. Непотребленный растениями и микроорганизмами нитратный азот уносится водой в нижележащие горизонты почвы или в водоемы.

Микроорганизмы могут использовать нитратный азот при образовании белка, происходит его иммобилизация, т. е. переход в недоступную для растений форму. После отмирания микробов их клетки минерализуются аммонификаторами с выделением аммиака, который в дальнейшем снова подвергается нитрификации.

При избытке свежего органического вещества и влаги, недостатке кислорода возможно биологическое восстановление нитратов до молекулярного азота с улетучиванием его в атмосферу. Этот процесс называется денитрификацией.

Принцип метода определения нитрифицирующей способности почв. Для определения мобилизуемой доли азота, почву на определенный срок (12 суток) помещают в благоприятные для процесса нитрификации условия: температура 28°С, влажность 60% капиллярной влагоемкости почвы при свободном доступе кислорода.

В поле эти условия создаются в чистом пару, где накапливается достаточно большое количество селитры. Под растительным покровом также идет нитрификация, но азот нитратов быстро поглощается корневой системой растений.

Создавая в лаборатории оптимальные условия для нитрификации, в более короткий срок возможно определить интенсивность этого процесса, потенциальные возможности процесса нитрификации и возможность обеспечения урожая азотом самой почвой.

Нитрифицирующая способность почвы определяется в естественном состоянии, при внесении в почву субстрата для нитрификаторов – сульфата аммония и извести для нейтрализации кислотности, возникающей в результате процесса нитрификации.

Ход анализа

Для определения нитрифицирующей способности одного образца почвы по полной схеме необходимо подготовить 3 стакана. На дно стакана помещают небольшое количество битого стекла (для дренажа), на стекло ставят стеклянную трубочку. Стаканы взвешивают на технических весах и записывают вес тары (стекло, трубочка и стакан).

На технических весах берут три навески почвы по 100 г (используют почву, отобранную в поле или из сосудов в день постановки опыта, предварительно просеянную через сито с диаметром отверстий 3 мм). Одновременно берут 10 г почвы для определения влажности почвы.

Первую навеску естественной почвы (*а*) сразу переносят в подготовленный стакан, слегка уплотняя ее пестиком.

Вторую навеску почвы предварительно помещают в большую фарфоровую чашку, прибавляют 0,14 г $(NH_4)_2SO_4$, соответствующего 30 мг N, тщательно перемешивают лопаточкой или ложкой и помещают во второй подготовленный стакан (*б*).

Третью навеску почвы переносят в фарфоровую чашку, добавляют 0,14 г $(NH_4)_2SO_4$ и 0,5 г $CaCO_3$, тщательно перемешивают и переносят в третий стакан (*с*).

Влажность почвы определяют высушиванием в сушильном шкафу при 105°С до постоянного веса. Рассчитывают влагоемкость почвы.

Стаканы с почвой ставят на технические весы и доводят до расчетного контрольного веса, соответствующего 60% ППВ дистиллированной водой из пипетки.

Затем ставят стаканы в термостат при температуре 28°С, периодически контролируя вес. В случае необходимости добавляют воду.

Примечание. Одновременно с закладкой компостов почвы в отдельной навеске определяют исходное содержание нитратов в почве.

После 12 дней компостирования определяют содержание нитратов в почве (компосте).

Реактивы

1. $(NH_4)_2SO_4$.
2. $CaCO_3$.

Определение нитратов в компостах

Ход анализа

На технических весах из компоста берут навеску 50 г почвы и переносят в колбу на 250 – 300 см^3. Добавляют 0,5 г мелко растертого активированного угля. Приливают цилиндром 250 см^3 дистиллированной воды и сразу же взбалтывают 5 мин.

Фильтруют через 3 – 5 складчатых фильтров в сухую посуду, стараясь переносить почву на фильтр.

Примечание. Если фильтрат мутный, осветлить его можно раствором сульфата алюминия, приготовленного следующим образом: 13 г соли растворяют в 100 см^3 дистиллированной воды, а затем 2 см^3 этого раствора добавляют к 100 см^3 вытяжки.

Сильно окрашенные вытяжки из солонцеватых почв обесцвечивают добавлением хлористого кальция или алюмокалиевых квасцов и соляной кислоты до получения примерно следующей концентрации по каждому соединению соответственно: 0,01 и 0,02%; 0,05 и 0,005 М растворов.

Далее определение и расчет содержания нитратов ведут по методу Грандваль-Ляжу, описанному выше.

Реактивы

1. Запасной образцовый раствор KNO_3 концентрации ($N–NO_3$) 0,01 мг/см^3: химически чистую соль перекристаллизовывают и сушат при 100 – 105°С до постоянного веса. На аналитических весах отвешивают 0,722 г KNO_3, переносят в мерную колбу на 1 дм^3, растворяют в дистиллированной воде, объем водой доводят до 1 дм^3, хорошо перемешивают.).

Рабочий раствор готовят разведением запасного раствора в 50 раз. Рабочий раствор содержит 0,002 мг $N–NO_3$ в 1 см^3. Его используют для приготовления шкалы.

2. Дисульфофеноловая кислота: 30 г фенола, очищенного перегонкой в колбе Вюрца, в термостойкой колбе емкостью 500 см^3 смешивают с 201 см^3 H_2SO_4 (d 1.84), закрывают пробкой с обратным воздушным холодильником (длинная стеклянная трубка) и нагревают на кипящей водяной бане в течение 6 час. Приготовленная таким образом дисульфофеноловая кислота представляет собой тягучую жидкость желто-коричневого цвета.

3. 20%-й раствор КОН или NaOH: 20 г сухого реактива растворяют в 80 см^3 воды.

АППЛИКАЦИОННЫЕ МЕТОДЫ

Аппликационные методы разработаны и рекомендованы для определения биологической активности почв в зависимости от применения минеральных и органических удобрений, известкования, способов обработки почвы, севооборотов и других факторов.

В почву с растительными остатками поступает значительное количество целлюлозы, и почвенные микроорганизмы (грибы) расщепляют ее.

Определение интенсивности разложения целлюлозы

Ход анализа

Стерильную неотбеленную тонкую льняную ткань пришивают к полимерной пленке (ширина отрезка пленки 10 см). Длина зависит от исследуемого горизонта: для пахотного – 20–25 см. Пленку стерилизуют спиртом, а ткань проглаживают утюгом. К вертикальной стенке свежего почвенного разреза на глубину 25–30 см плотно прижимают полотно, придавливают почвой, разрез засыпают. Верхний край ткани должен быть погружен в почву на 3 – 5 см. Повторность опыта 3 – 5-кратная.

Через месяц (через 2 – 3 мес.) полотно осторожно извлекают, отмывают от почвы и продуктов разложения, подсушивают и взвешивают. Для определения динамики процесса одновременно закапывают несколько полотен, которые извлекают последовательно через определенные интервалы времени. По убыли в весе судят об интенсивности процесса разрушения клетчатки.

Начальный вес ткани узнают путем определения среднего веса 25 $см^2$ ткани или начального веса ткани, закладываемой в почву. Если необходимо иметь информацию о разложении целлюлозы в каждом горизонте, ткань разрезают на куски в соответствии с почвенными горизонтами.

Д.Г. Звягинцевым (1980) предложена следующая шкала оценки биологической активности почв по интенсивности разрушения клетчатки (% разложившегося полотна за вегетационный сезон): очень слабая < 10, слабая 10 – 30, средняя 30 – 50, сильная 50 – 80, очень сильная > 80.

Определение интенсивности накопления свободных аминокислот в почве

Ход анализа

Стеклянные пластинки размером 10×30 см обшивают полосами хлопчатобумажной ткани, стерилизуют в автоклаве (работают в резиновых перчатках во избежание попадания аминокислот и белков с кожи рук).

После 10–30-дневной экспозиции (в зависимости от микробиологической активности почвы) пластинки с тканью извлекают из разреза (экспозиция 10 дней применяется на хорошо окультуренной почве,

20 дней – на среднеокультуренной почве, 30 дней – на слабо окультуренной почве).

После извлечения из почвы пластинки с тканью очищают щеточкой от комочков почвы. Полоски ткани опрыскивают 0,5% раствором нингидрина в ацетоне. Ткань высушивают при комнатной температуре в течение 24 ч до полного проявления окраски. Если необходимо исследовать слои почвы 0 – 10, 10 – 20 и 20 – 30 см, ткань разрезают на соответствующие полоски. Из ткани вырезают квадраты 5 × 5 см, измельчают ножницами на лоскутки размером 0,25 × 1 $см^2$. Лоскутки ссыпают в колбу на 50 $см^3$ с притертой пробкой, приливают цилиндром 20 $см^3$ 75%-го этанола, встряхивают на ротаторе 10 мин.

Красящее вещество извлекают из ткани 96%-м этиловым спиртом, содержащим $CuSO_4$. Экстракт сливают в мерную колбу на 50 $см^3$, а измельченную ткань вновь заливают 20 $см^3$ этилового спирта. Экстракцию повторяют 3 раза.

Экстракт доводят спиртом до метки, закрывают пробкой, колориметрируют при длине волны 530 нм.

Примечание. Необходимо перед опытом ставить контрольное определение, и если на ткани обнаружатся аминокислоты или белки, ее промывают 75%-м этиловым спиртом.

Плотность окраски опытных образцов сравнивают с плотностью окраски стандартных растворов. Стандартные растворы получают разбавлением окрашенного нингидрином раствора какой-либо аминокислоты. В дерново-подзолистых почвах одной из доминирующих аминокислот является аланин. Расчет проводится на 1 $см^2$ ткани.

При необходимости из ткани можно извлечь аминокислоты и количественно определить каждую из них.

Определения суммарной токсичности почвы, растительной продукции биотестированием

Предлагаемый метод модифицирован и апробирован на кафедре агрохимии МГУ Е.Х. Ремпе и Л.П. Ворониной.

Метод основан на высокой отзывчивости семян редиса на токсические вещества. Расчет ведется путем учета снижения длины корней проростков семян в растворах препаратов вытяжек из анализируемых образцов почвы, сока корневой системы и конечной продукции по сравнению с контролем, выраженное в процентах. В полевых условиях при определении суммарной токсичности контролем должен служить образец, отобранный с варианта опыта без применения химических средств защиты растений.

Отбор пробы для анализа

Образцы почвы должны отбираться не менее чем из 15 мест опытного участка. Весь почвенный образец должен быть тщательно перемешан. Средний образец для анализа (не менее 100 г с каждого опытного участка) должен храниться и транспортироваться до эксперимента в целлофановом мешочке. Анализируется свежий сырой материал.

Растительные образцы отбираются не менее тщательным образом. Средняя проба растительного материала должна быть представительна (не менее 10 корнеплодов или растений) и тщательно усреднена. Анализы необходимо выполнять в свежем материале. Образцы измельчаются с помощью гомогенизатора или терки из нержавеющей стали, обеспечивающих получение однородной массы.

При анализе зерна необходимо соблюдать все требования предъявляемые для подготовки к анализу образцов злаков. Воздушно-сухие образцы должны быть измельчены.

Подготовка к анализу

Тщательно отобранные семена по 215 штук помещают в стеклянные стаканчики. Количество стаканчиков с семенами должно соответствовать числу анализируемых образцов. Предварительно семена отбираются и должна быть определена их всхожесть, которая должна составлять 90 – 95%. Должна быть подготовлена водопроводная вода (прокипеть 10 – 15 мин). После кипения закрыть ватной пробкой и дать остыть.

Ход анализа

Пробу сырого почвенного материала 100 г взвешивают с погрешностью 0,1, пересыпают в колбу 250 $см^3$ и приливают 100 $см^3$ водопроводной воды. Взбалтывают в течение 2,5 ч.

Полученную суспензию отфильтровывают и из нее мерной пипеткой отбирают 4 $см^3$ раствора, которыми заливают, подготовленные в стаканчиках семена.

Пробу сырого гомогенизированного растительного материала отжимают в марле или белой синтетической ткани и мерной пипеткой отбирают аликвоту 4 $см^3$, которой заливают, помещенные в стаканчик семена.

Пробу сухого размолотого растительного материала заливают водой в отношении 2:1, встряхивают в течение 2,5 ч. После чего центрифугируют 30 мин при температуре 0°С при 6 тыс./об./мин и из полученной жидкости отбирают 4 $см^3$, которыми заливают семена биотеста. Через сутки (24 ч) семена раскладываются из стаканчика на чашки Петри. Семена из одного стаканчика точно в количестве 50 штук раскладывают на одну чашку Петри. Таким образом достигается четырехкратная повторность, необходимая для оценки достоверности результатов. Необходимо семена, которые оказались повреждены, оставлять в

стаканчике, для этого при замачивании закладывали дополнительное количество семян (15 штук).

Чашки Петри должны быть подготовлены следующим образом: на дно каждой чашки укладывается три бумажных фильтра, соответствующих размерам дна чашки, которые смачиваются 5 $см^3$ водопроводной воды (после кипячения и охлаждения). Поверхность фильтров тщательно выравнивается.

Когда все семена будут перенесены на чашки Петри и равномерно распределены на фильтрах по 50 штук в каждой в 4-кратной повторности для каждого опыта, их необходимо поместить в биотермоста при температуре 25°С на 48 ч.

Через двое суток на третьи (72 ч) замеряют мерной линейкой общую длину проростков на каждой чашке Петри и учитывают количество непроросших семян на каждой чашке.

Расчет суммарной токсичности в исследуемых образцах

Определяют среднюю длину проростка на каждой чашке. Для этого общую длину проростков делят на количество проросших на чашке семян.

Далее определяют среднее арифметическое четырех повторностей по результатам для каждого варианта.

Среднее арифметическое длины проростка, полученное на контрольном варианте (вариант опыта без использования пестицидов) соответствует 100%, а результаты на других вариантах сопоставляются с контролем (в %).

Разность между установленной процентной величиной и контролем и соответствует в случае угнетения определяемой суммарной токсичности.

24. Классификация почв по суммарной токсичности

Класс опасности	Характеристика	Эффект торможения роста корней
1	Чрезвычайно токсичные	> 75%
2	Высоко токсичные	50 – 75%
3	Умеренно токсичные	20 – 50%
4	Мало токсичные	< 20%

Посуда

1. Стеклянные колбы объемом 250 $см^3$.
2. Стеклянные стаканчики (по 75 $см^3$).
3. Воронки.
4. Чашки Петри.
5. Пластиковый или стеклянный шпатель.
6. Мерные пипетки.

Материалы, реактивы, аппаратура

1. Семена редиса.
2. Фильтровальная бумага или бумажные фильтры.
3. Вода (дистиллированная).
4. Вода водопроводная (после 10–15 мин кипения).
5. Мельница для размола образцов.
6. Весы (погрешность не боле 0,1 г).
7. Встряхиватель.
8. Гомогенизатор, терка или другие приспособления для размельчения сырых растительных образцов.
9. Центрифуга.
10. Биотермостат.

ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЧВ

Ферменты – биологические катализаторы белковой природы, которые играют важнейшую роль в обмене веществ, регулируя биохимические процессы. Они синтезируются микрофлорой, высшими растениями и поступают в почву с их прижизненными выделениями, после отмирания и лизиса микробных клеток и растительных остатков. Ферменты, выделяемые в почву, значительное время сохраняют активность благодаря фиксации (иммобилизации) илистой и пылеватой фракциями почв, ее органическим веществом.

Ферментативная активность почв определяет интенсивность и направленность биохимических процессов, от которых зависит плодородие почвы, и является одним из важных показателей ее биологической активности.

На активность ферментов в почве влияют различные факторы, ингибирующие или активизирующие их действие. Активность ферментов в почве зависит от ее физико-химических свойств, засоленности, карбонатности, окультуренности, внесения удобрений, известкования.

Определение активности ферментов важно для оценки влияния агрохимических средств (традиционных и нетрадиционных органических и минеральных удобрений и химических мелиорантов) на биологическую активность почвы без привлечения специальных микробиологических методов, чтобы судить о мобилизации органических соединений азота, фосфора, серы и др. для питания растений. Ферментативную активность почвы определяют с помощью традиционных химических методов.

По характеру катализируемых процессов ферменты делятся на 6 классов: оксидоредуктазы, гидролазы, лиазы, трансферазы, изомеразы и синтетазы. С точки зрения агрохимии наиболее интересны первые две группы. Активность оксидоредуктаз характеризует окислительно-восстановительные условия в почве, активность гидролаз – интенсивность процессов минерализации органических веществ, в состав которых входят важнейшие питательные элементы – азот, фосфор и некоторые другие.

Оксидоредуктазы	**Гидролазы**
каталаза	***Пептидгидролазы***
аскорбинатоксидаза	протеаза
полифенолоксидаза	***Амидогидролазы***
пероксидаза	аспарагиназа
дегидрогеназа	уреаза
нитратредуктаза	***Фосфогидролазы***
нитритредуктаза	АТФаза
ферриредуктаза	фосфатаза
сульфатредуктаза	***Глюкозидгидролазы***
MnO_2-редуктаза	инвертаза
	амилазы
	целлюлаза

Наиболее изучены в почве ферменты, для которых в основном и разработаны методы их определения в настоящем «Практикуме по агрохимии».

Активность фермента выражается в единицах ферментативного действия, что отражает количественные изменения, производимые ферментом в субстрате в определенный отрезок времени при строго определенных условиях – концентрации субстрата, pH, температуре и некоторых других условиях. Существует шкала для оценки степени обогащенности почв ферментами (табл. 25).

25. Шкала для оценки степени обогащенности ферментами (Д.Г. Звягинцев, 1978)

Степень обеспеченности почвы	Каталаза, $см^3$ O_2 на 1 г почвы за 1 мин.	Дегидрогеназа, мг ТФФ на 10 г почвы за 24 ч.	Инвертаза, мг глюкозы на 1 г почвы за 24 ч.	Уреаза, мг NH_4 на 10 г почвы за 24 ч.	Фосфатаза, мг P_2O_5 на 10 г поч вы за 24 ч.
Очень бедная	< 1	< 1	< 5	< 3	<0,5
Бедная	1 – 3	1 – 3	5 – 15	3 – 10	0,5 – 1,5
Среднеобогащенная	3 – 10	3 – 10	15 – 50	10 – 30	1,5 – 5,0
Богатая	10 – 30	10 – 30	50 – 150	30 – 100	5.0 – 15
Очень богатая	> 30	> 30	> 150	> 100	> 15

За основу определения ферментов в почве взяты методы, описанные А.Ш. Галстяном (1974). В настоящем издании приведены методики определения активности ферментов дегидрогеназы, нитрат-, нитритредуктазы, ферриредуктазы, сульфатредуктазы, MnO_2-редуктазы, усовершенствованные и модифицированные сотрудницей кафедры агрохимии МГУ Н.Ф. Гомоновой.

Подготовка почвы для определения ферментов

Почву для определения активности ферментов отбирают в поле или из вегетационных сосудов по общепринятой методике. Для определения ферментов в свежих образцах из почвы необходимо удалить корни растений, так как ферменты, содержащиеся в их тканях, исказят результаты определений. Эту операцию выполняют пинцетом. Далее почву просеивают через сито диаметром отверстий 0,25 мм (при этом отделяются более мелкие корни) и сразу приступают к анализу.

При определении активности ферментов в сухой почве образцы высушивают до воздушно-сухого состояния при комнатной температуре. Почву тщательно очищают от корней: крупные их частицы выбирают пинцетом, а просеивая почву через сито с диаметром отверстий 0,25 мм, удается отделить более мелкие корешки. Плохо визуализируемые корешки удаляют с помощью заряженной статическим электричеством стеклянной палочки, потертой шелковой тканью или эбонитовой, потертой шерстяной тканью.

При определении ферментативной активности почв для получения воспроизводимых данных необходимо параллельно с опытным образцом ставить контрольные определения: а) почва, стерилизованная сухим жаром при 180°С в течение 3 ч + субстрат для фермента; б) нестерилизованная почва без субстрата (его заменяют равным объемом воды); в) субстрат без почвы и все реактивы, необходимые для определения.

ОКСИДОРЕДУКТАЗЫ

Ферменты, относящиеся к классу оксидоредуктаз, катализируют окислительно-восстановительные реакции, играющие ведущую роль в биохимических процессах в клетках живых организмов и в почве.

Активность окислительно-восстановительных ферментов находится в корреляционной зависимости с основными физико-химическими свойствами, микробиологическими процессами в почве, нитрификацией, сульфофикацией.

Каталаза
(H_2O_2 : H_2O_2-оксидоредуктаза. КФ 1.111.6)

Катализирует реакцию разложения перекиси водорода на воду и молекулярный кислород: $2\,H_2O_2 \rightarrow 2\,H_2O + O_2$

Перекись водорода образуется в процессе дыхания растений и в результате биохимических реакций окисления органических веществ.

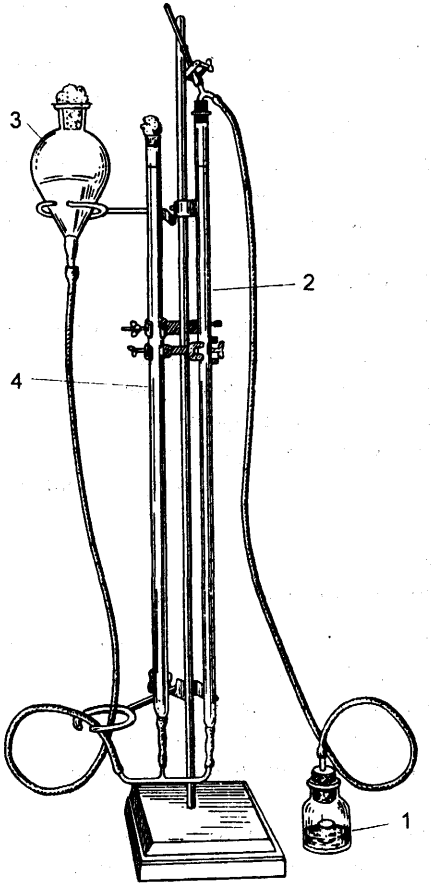
Роль каталазы в почве заключается в разрушении ядовитой для растений перекиси водорода.

Методы определения каталазной активности почв основаны на измерении скорости распада перекиси водорода при взаимодействии ее с почвой.

Газометрический метод определения активности каталазы

Ход анализа

Навеску почвы 1 г вносят в толстостенную колбу или склянку емкостью 100 $см^3$, добавляют 0,5 г $CaCO_3$. Осторожно на дно колбы ставят пинцетом маленький стаканчик с 5 $см^3$ 3% раствора перекиси водорода (1). Колбу плотно закрывают каучуковой пробкой, имеющей трубку, соединенную каучуковым шлангом через тройник (2), снабженный зажимом или краном, с бюреткой. Последняя сообщается с грушей (3). Бюретка и груша заполнены водой. Уровень воды в бюретке (4) и груше уравновешивают и последнюю закрепляют на определенной высоте. Закрывают кран, устраняя сообщение прибора с внешней средой. Следят, чтобы уровень воды в бюретке не менялся, что свидетельствует о достижении температурного равновесия в приборе и комнате (рис. 24).



Начало опыта отмечают по секундомеру в тот момент, когда стаканчик с перекисью водорода опрокидывается и вслед за этим встряхивается содержимое колбы. Взбалтывание смеси продолжают во все время опыта, не касаясь непосредственно колбы руками. Выделяющийся кислород вытесняет из бюретки воду, уровень которой фиксируют.

Количество выделившегося молекулярного кислорода учитывают при температуре 18 – 20°С в течение 1 – 2 мин.

Рис. 24. Прибор для определения активности каталазы:

1 – колба с почвой и маленьким стаканчиком на дне;
2 – каучуковый шланг и тройник;
3 – груша; 4 – бюретка

Активность каталазы выражают в миллилитрах кислорода, выделившегося на 1 г почвы за определенный промежуток времени (1 мин).

Перманганатометрический метод определения активности каталазы Джонсона и Темпле

Ход анализа

В коническую колбу емкостью 125 $см^3$ помещают 2 г почвы, приливают 40 $см^3$ дистиллированной воды и 5 $см^3$ 0,3%-й H_2O_2. Колбу взбалтывают на ротаторе 20 мин. Нерасщепленную часть перекиси стабилизируют добавлением 5 $см^3$ 1,5 М серной кислоты, содержимое фильтруют через плотный фильтр. Затем 25 $см^3$ фильтрата титруют 0,1 М $KMnO_4$ до слабо-розовой окраски. Точную начальную концентрацию использованной перекиси устанавливают титрованием перманганатом в кислой среде. Для этого 5 $см^3$ 0,3%-й перекиси смешивают с 40 $см^3$ воды и 5 $см^3$ 1,5 М серной кислоты и 25 $см^3$ этой смеси титруют 0,1 М марганцевокислым калием.

Из количества перманганата, израсходованного на титрование исходной перекиси водорода (*А*), вычитают количество перманганата, израсходованного для титрования аликвоты фильтрата (*Б*). Эта разница с учетом поправки к титру перманганата (*Т*) отражает каталазную активность почвы, определяемую по формуле: $(А - Б) \cdot Т$.

Каталазную активность выражают в $см^3$ 0,1 М $KMnO_4$ на 1 г почвы за 20 мин.

Реактивы:

1. 0,3%-я перекись водорода: 30%-й раствор разбавляют водой в соотношении 1:100;
2. 1.5 М серная кислота;
3. 0,1 М раствор перманганата калия, титр которого устанавливают по оксалату натрия.

♦ Описание метода взято из монографии Ф.Х. Хазиева «Методы почвенной энзимологии» (М., Наука, 1990).

Аскорбинатоксидаза (L-аскорбинат : кислород-оксидоредуктаза. КФ 1.10.3.3)

Этот фермент катализирует окисление аскорбиновой кислоты. Источником аскорбиновой кислоты в почве могут быть микроорганизмы и растения. Под действием аскорбинатоксидазы она превращается в дегидроаскорбиновую кислоту.

В основе метода лежит использование редуцирующих свойств аскорбиновой кислоты. Определение активности сводится к установлению остаточного количества аскорбиновой кислоты после взаимодействия почвы с субстратом. Разность между количеством аскорбиновой

кислоты, внесенной в почву, и оставшейся неиспользованной после инкубирования с почвой эквивалентна количеству образующейся дегидроаскорбиновой кислоты.

Ход анализа

Навеску почвы 1 г помещают в колбу Эрленмейера на 50 см^3. Приливают пипеткой 1 см^3 1%-го раствора аскорбиновой кислоты и 1 см^3 дистиллированной воды. Колбу встряхивают, закрывают корковой пробкой и ставят на 1 ч в политермостат при температуре 37°С. После инкубации добавляют 28 см^3 1%-й HCl. Взбалтывают на ротаторе 5 мин и фильтруют через рыхлый фильтр.

В колбы Эрленмейера на 250 см^3 помещают пипеткой 5 см^3 фильтрата, приливают 45 см^3 дистиллированной воды и титруют 0,001 М раствором 2,6-дихлорфенолиндофенола (синька) до розового окрашивания, не исчезающего в течение 1 мин.

Активность аскорбинатоксидазы (X) выражают в миллиграммах дегидроаскорбиновой кислоты на 100 г почвы за 1 ч, учитывая, что количество аскорбиновой кислоты эквивалентно количеству образующейся дегидроаскорбиновой кислоты:

$$X = \frac{(а - б) \cdot M \cdot p \cdot 100}{н},$$

где *а* – количество 0,001 М раствора 2,6-дихлорфенол-индофенола (синьки), израсходованное на титрование 1 см^3 аскорбиновой кислоты, взятой в качестве субстрата, см^3; б –в опытном варианте, см^3; *М* – молярность 0,001 М раствора синьки с учетом поправки к титру; *р* – разведение раствора; *н* – навеска почвы, г; *100* – перевод на 100 г почвы.

Реактивы

0,001 М раствор 2,6-дихлорфенолиндофенола: растворяют 200 мг краски в небольшом количестве воды, а затем доводят объем до 1 дм^3. Раствор необходимо профильтровать, а затем для подщелачивания добавляют $NaHCO_3$ (на кончике ножа). Титр краски по аскорбиновой кислоте определяют непосредственно перед опытом. Для этого в мерной колбе на 50 см^3 растворяют 1–1,5 мг (несколько кристаллов) аскорбиновой кислоты в 2%-й H_2SO_4. В две конические колбочки берут по 5 см^3 приготовленного раствора, и после добавления кристаллов йодистого калия KI (5–10 мг) и 5 капель 1%-го раствора крахмала, титруют в одной колбочке краской, в другой – точно 0,001 М раствором KIO_3.

Расчет титра: $T = 0{,}088 \cdot a : b$, где *Т* – количество миллиграммов аскорбиновой кислоты, соответствующее 1 см^3 краски; *0,088* – количество миллиграммов аскорбиновой кислоты, соответствующее 1 см^3 0,001 М раствора йодата калия; *а* – объем 0,001 М раствора йодата калия, израсходованный на титрование раствора аскорбиновой кислоты, см^3; *b* – количество раствора краски, израсходованное на титрование, см^3.

Полифенолоксидаза
(о-Дифенол: кислород-оксидоредуктаза. КФ 1.10.3.1.)

Полифенолоксидаза в почве участвует в превращении органических соединений ароматического ряда в компоненты гумуса. Катализирует окисление моно-, ди-, трифенолов до хинонов в присутствии кислорода воздуха. Хиноны при конденсации с аминокислотами и пептидами могут участвовать в образовании первичных молекул гуминовых кислот.

Активность полифенолоксидазы определяется по образованию пурпурогаллина из пирогаллола.

Ход анализа

Навеску почвы 1 г помещают в мерную колбу на 50 $см^3$ с притертой пробкой. Прибавляют пипеткой 10 $см^3$ 1%-го раствора пирогаллола, перемешивают. Ставят в термостат при 30°С на 30 мин. Образовавшийся в процессе инкубирования почвы с пирогаллолом в термостате пурпурогаллин извлекают серным эфиром (который добавляют в колбу до метки), закрывают пробкой, перемешивают. Через 10 мин колориметрируют эфирный раствор на фотометре Пульфриха в кюветах на 5 мм при длине волны 430 нм. В качестве стандарта используют раствор бихромата калия.

Активность полифенолоксидазы (X) выражают в миллиграммах пурпурогаллина, образовавшегося за 30 мин. в 100 г почвы.

$$X = \frac{a \cdot 100}{н},$$

где *а* – мг пурпурогаллина по калибровочному графику; *н* – навеска почвы, г; *100* – пересчет на 100 г почвы.

Реактивы

1. 20%-й раствор H_2SO_4: 129,9 $см^3$ концентрированной H_2SO_4 осторожно вливают в 500–800 $см^3$ воды, перемешивают и доводят объем до 1 $дм^3$.
2. Стандартный раствор бихромата калия: 0,75 г $K_2Cr_2O_7$ растворяют в 1 $дм^3$ 0,5 М HCl (оптическая плотность этого раствора соответствует таковой раствора, содержащего 5 мг пурпурогаллина в 50 $см^3$ эфира).
3. 0,5 М HCl: 41 $см^3$ концентрированной HCl (d = 1.19) вливают в дистиллированную воду, доводят до 1 $дм^3$.

Пероксидаза (Донор: H_2O_2-оксидоредуктаза. КФ 1.11.17)

Пероксидаза участвует в реакции конденсации веществ при образовании молекул гуминовых кислот, принимает участие в окислительно-восстановительных процессах в почве.

Этот фермент катализирует окисление полифенолов в присутствии перекиси водорода или органических перекисей, так как сами перекиси обладают сравнительно слабым окисляющим действием на фенолы.

Пероксидаза действует на фенолы и ароматические амины: пирогаллол, гидрохинон, пирокатехин, ортокрезол и др.

Оптимальное значение pH для активности пероксидазы лежит в пределах нейтрального и слабощелочного интервала, однако может несколько меняться в зависимости от характера субстратов.

Ход анализа

На технических весах берут навеску почвы 1 г в мерную колбу на 50 $см^3$ с притертой пробкой. Прибавляют пипеткой 10 $см^3$ 1%-го раствора пирогаллола, 2 $см^3$ 0,5%-го раствора перекиси водорода, 0,5 $см^3$ толуола. Колбу закрывают пробкой, встряхивают и ставят в термостат при температуре 30°С на 30 мин, по истечении которых прекращают реакцию, прибавив 5 $см^3$ 2%-й H_2SO_4.

Образовавшийся пурпурогаллин извлекают многократным взбалтыванием смеси с серным эфиром в делительной воронке (до обесцвечивания раствора). Эфирные слои сливают в мерную колбу и доводят ее эфиром до метки; перемешивают и колориметрируют с зеленым светофильтром (430 нм) в кювете шириной 10 мм.

В качестве стандарта при колориметрировании применяют водный раствор двухромовокислого калия (0,75 г соли растворяют в 1 $дм^3$ 0,5 М HCl) или эфирный раствор кристаллического пурпурогаллина (5 мг пурпурогаллина в 50 $см^3$ эфира).

В исследуемой вытяжке должно содержаться не менее 2 мг пурпурогаллина.

Активность пероксидазы (X) выражают в миллиграммах пурпурогаллина на 100 г почвы за 30 мин: $X = \frac{a \cdot 100}{н}$,

где *а* – мг пурпурогаллина (или бихромата калия) по калибровочному графику; *н* – навеска почвы, г; *100* – пересчет на 100 г почвы.

Дегидрогеназы (Субстрат: НАД(Ф)-оксидоредуктаза. КФ 1.1.1)

Дегидрогеназы – ферменты, участвующие в процессе дыхания. Они отщепляют водород от окисляемых субстратов. Одни дегидрогеназы могут переносить водород непосредственно на молекулярный кислород, другие – только на какие-либо иные акцепторы, например метиленовую синь. Дегидрогеназы катализируют дегидрирование органических веществ и выполняют роль промежуточных переносчиков водорода. При этом субстратами дегидрирования могут быть различные углеводы, органические кислоты, аминокислоты, гуминовые кислоты и т. д. В почве активно действуют дегидрогеназы углеводов и органических кислот. Отщепляемый в процессе дегидрирования водород может передаваться кислороду воздуха (аэробные дегидрогеназы) или органическим веществам типа хинонов (анаэробные дегидрогеназы). Активность дегидрогеназ является показателем жизнедеятельности микроорганизмов

и количества гумусовых веществ, поддающихся разложению микробами.

При определении активности дегидрогеназ в качестве акцептора водорода применяют соль 2,3,5-трифенилтетразолий хлористый (ТТХ). При этом бесцветные соли тетразолия восстанавливаются в красные соединения трифенилформазана (ТФФ).

Ход анализа

Навеску почвы помещают в вакуумную колбу объемом 50 $см^3$ с притертой стеклянной пробкой. Добавляют 10 мг $CaCO_3$ и тщательно смешивают. Добавляют 1 $см^3$ 0,1 М раствора глюкозы и 1 $см^3$ 1%-го раствора 2,3,5-трифенилтетразолия хлористого.

Определение проводится в анаэробных условиях. Для этого воздух из колбы удаляют при разрежении 10 –12 мм ртутного столба в течение 2 –3 мин.

Колбу осторожно встряхивают и ставят в термостат при 37°С на 24 ч. После инкубирования добавляют 23 $см^3$ этилового спирта-ректификата и встряхивают 5 мин. Полученный раствор фильтруют и колориметрируют в кюветах шириной 5 мм, используя светофильтр с длиной волны 500– 600 нм.

Количество формазана в миллиграммах, соответствующее оптической плотности опытного раствора, рассчитывают по калибровочному графику.

Определение активности дегидрогеназы

Ход анализа

Навеску почвы 1 г помещают в пробирку, добавляют 10 мг $CaCO_3$, тщательно смешивают с почвой встряхиванием. Добавляют 1 $см^3$ 0,1 М раствора глюкозы и 1 $см^3$ 1%-го раствора 2,3,5-трифенилфосфата хлористого, перемешивают.

Определение проводят в анаэробных условиях. Подготовленные пробирки с образцами почвы помещают в анаэростат, закрывают его и соединяют с вакуумным насосом. Затем медленно удаляют воздух из анаэростата в течение 3–5 мин, достигая разрежения 0,9–1 атм. (что соответствует 10 мм ртутного столба). Анаэростат с находящимися в нем пробирками ставят в политермостат при температуре 37°С на 24 ч. После инкубирования медленно ослабляют винт крышки анаэростата для постепенного заполнения прибора атмосферным воздухом.

В пробирки с образцами добавляют по 23 $см^3$ этилового спирта-ректификата, встряхивают 5 мин. Полученный раствор фильтруют в мерные колбы на 25 $см^3$. Фильтрат в мерных колбах доводят до метки спиртом-ректификатом, перемешивают и сразу колориметрируют в кюветах на 5 мм, используя светофильтр с длиной волны 500 – 600 нм.

Для составления *калибровочного графика* готовят стандартный раствор формазана в этиловом спирте (0,1 мг в 1 см^3), затем в мерную колбу на 25 см^3 берут объемы стандартного раствора, содержащие от 0,1 до 1,0 мг формазана, этанолом доводят до метки и фотоколориметрируют.

Активность дегидрогеназы выражается в миллиграммах ТФФ на 10 г почвы за сутки.

Далее определение ведется по вышеописанному способу.

Активность дегидрогеназ (X) рассчитывают по формуле $X = \frac{a \cdot p \cdot 10}{н}$,

где a – мг ТФФ по калибровочному графику; p –разведение; $н$ – навеска почвы, г; 10 – пересчет на 10 г почвы.

Реактивы

1. 1 М раствор субстрата дегидрирования: 1 г глюкозы растворяют в 100 см^3 дистиллированной воды.
2. 1%-ный раствор ТТХ: 1 г на 99 см^3 дистиллированной воды.
3. ТФФ (трифенилформазан) для калибровочной кривой.
4. Этиловый спирт-ректификат.

Нитратредуктаза (восстановленный НАД: нитрат-оксидоредуктаза. КФ 1.6.6.1)

Процессы восстановления нитратного азота в почве до аммиака катализируют ферменты нитратредуктаза и нитритредуктаза. Нитратредуктаза действует как донор водорода и переносит его к кислороду нитратов. В результате действия нитратредуктазы нитраты превращаются в нитриты: $НАД \cdot H_2 + NO_3 = НАД + NO_2 + H_2O$.

Метод определения активности нитратредуктазы в почве основан на учете уменьшения количества нитратного азота при анаэробной инкубации почвы.

Ход анализа

Навеску почвы 1 г помещают в пробирку, добавляют 20 мг $CaCO_3$, в качестве субстрата приливают 1 см^3 1%-го раствора KNO_3, тщательно перемешивают. Пипеткой прибавляют 1 см^3 1%-го раствора глюкозы в качестве донора водорода, перемешивают.

Пробирки помещают в анаэростат. Воздух из анаэростата медленно откачивают вакуумным насосом при разрежении 0,9–1,0 атм. (10–12 мм рт.ст.). Анаэростат с пробирками помещают в термостат на 24 ч при 37°С.

После инкубации суспензию из пробирок несколькими порциями дистиллированной воды переносят в мерную колбу на 50 см^3, доводят до метки, перемешивают и фильтруют в другую мерную колбу на 50 см^3, снова доводят до метки дистиллированной водой, перемешивают. Если вытяжка мутная, добавляют 1 см^3 насыщенного раствора алюмокалиевых квасцов.

Далее определение ведут по методу Грандваль-Ляжу. Помещают 20 $см^3$ фильтрата в фарфоровую чашку и выпаривают на водяной бане до 1 капли (при пересушивании сухого остатка могут быть потери нитратов). Пипеткой прибавляют 1 $см^3$ дисульфофеноловой кислоты и тщательно растирают сухой остаток небольшой стеклянной палочкой. Через 10 мин в чашку приливают 15 $см^3$ дистиллированной воды, перемешивают, опускают в раствор кусочек лакмусовой бумаги. Приливают из бюретки 20%-й раствор щелочи до окрашивания лакмусовой бумаги в синий цвет. При этом образуется комплексное соединение желто-оранжевого цвета. Если раствор помутнеет, добавляют еще 2 – 3 капли щелочи. Содержимое чашки через небольшую воронку без фильтра количественно переносят в мерную колбу объемом 50 $см^3$. Доводят раствор водой до метки, закрывают пробкой, взбалтывают.

Раствор можно сразу колориметрировать на ФЭКе с синим светофильтром.

Количество нитратного азота в растворе находят по стандартной кривой, составленной на перекристаллизованный азотнокислый калий.

Активность нитратредуктазы (*X*) выражают в миллиграммах восстановленного NO_3^- на 10 г почвы за сутки: $X = \frac{(а - б) \cdot р \cdot 10}{н}$,

где *а* – количество NO_3, содержащееся в субстрате, мг; *б* – содержание NO_3, обнаруженное после инкубации почвы с субстратом, по графику, мг; *р* – разведение; *10* – пересчет на 10 г почвы; *н* – навеска почвы, г.

Разница между количеством NO_3, внесенного в почву в составе субстрата (1 $см^3$ 1%-го KNO_3 содержит 6,13 мг NO_3^-) и определенного в реакционной смеси, равна количеству восстановленного нитратного азота.

Реактивы.

1. 1% раствор KNO_3 – 1 г соли растворяют в 99 $см^3$ дистиллированной воды.
2. Запасной образцовый раствор KNO_3 с содержанием $N–NO_3$ 0.01 мг/$см^3$. Приготовление см. на с. 318.

Рабочий раствор готовят разведением запасного раствора в 50 раз. Рабочий раствор содержит 0,002 мг $N–NO_3$ в 1 $см^3$. Его используют для приготовления шкалы.

3. Дисульфофеноловая кислота: приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.
4. 20%-й раствор КОН или NaOH: 20 г сухого реактива растворяют в 80 $см^3$ воды.

Нитритредуктаза (НАД(Ф) · H_2: нитрит-оксиредуктаза. КФ 1.6.6.4)

В результате действия нитритредуктазы нитриты превращаются в гидроксиламин и в гидрат окиси аммония. Нитриты образуются в почве в начальной стадии восстановления нитратов:

$$7\ НАД(Ф) \cdot H + 2\ NO_2 = 7\ НАД(Ф) + 2\ NH_4OH + 2\ H_2O.$$

Принцип метода основан на способности нитритов образовывать с реактивом Грисса (смеси сульфаниловой кислоты и нафтиламина) соединение, окрашивающее раствор в красный цвет. Количественный учет нитритов производится с помощью калибровочной номограммы.

Ход анализа

На технических весах берут навеску почвы 1 г и помещают в пробирку на 25 $см^3$. В пробирку прибавляют 20 мг $CaCO_3$, перемешивают. Приливают пипеткой 1 $см^3$ 0,5%-го раствора $NaNO_2$ (субстрат для фермента) и 1 $см^3$ 0,1 М раствора глюкозы в качестве донора водорода.

Пробирки ставят в анаэростат, воздух из него медленно откачивают вакуумным насосом до разрежения 0,9–1,0 атм. Анаэростат с пробирками помещают в политермостат на 24 ч при 37°С. После инкубации медленно открывают анаэростат. Содержимое пробирок переносят дистиллированной водой в мерные колбы на 50 $см^3$. Добавляют 1 $см^3$ насыщенного раствора алюмокалиевых квасцов, перемешивают, фильтруют через плотный фильтр. Пипеткой берут 1 $см^3$ фильтрата в мерную колбу на 50 $см^3$, цилиндром прибавляют 5 $см^3$ дистиллированной воды, добавляют 4 $см^3$ реактива Грисса. Колбу доводят водой до метки, перемешивают и колориметрируют через 15 мин с зеленым светофильтром в кюветах шириной 5 мм.

Количество нитритов определяют по предварительно составленной калибровочной кривой. Затем по разности между количеством нитрита, внесенного в инкубационную смесь (33,3 мг) и обнаруженного в фильтрате рассчитывают количество восстановленного субстрата.

Активность нитритредуктазы выражают в миллиграммах восстановленного NO_2 на 1 г почвы за сутки.

Реактивы

1. 0.5%-й раствор $NaNO_2$: 0.5 г соли растворяют в 99,5 $см^3$ воды.
2. 0.1 М раствор глюкозы: 1г глюкозы растворяют в 100 $см^3$ воды.
3. Насыщенный раствор алюмокалиевых квасцов.
4. Реактив Грисса, приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.
5. Стандартный раствор $NaNO_2$: 0.15 г высушенной при 70–80°С соли растворяют в 1 $дм^3$ свободной от нитритов воды. 1 $см^3$ этого раствора содержит 0,1 мг NO_2-ионов. При хранении в холодильнике раствор устойчив в течение месяца. Для приготовления рабочего раствора берут 25 $см^3$ стандартного раствора и разводят водой в колбе на 500 $см^3$. Полученный раствор содержит 0,005 мг NO_2-ионов в 1 $см^3$.

Ферриредуктаза
(восстановленный НАД(Ф): Fe_2O_3 -оксидоредуктаза. КФ 1.6.99)

Ферриредуктаза осуществляет перенос водорода, мобилизованного дегидрогеназными системами НАД (Ф) · H_2, на кислород окиси железа, восстанавливая его в закисную форму:

$$Fe_2O_3 + 6\,H^{+} + 2\,e^{-} \rightarrow 2\,Fe^{2+} + 3\,H_2O$$

Кислород окиси железа – конечный акцептор электронов в цепи окислительно-восстановительных процессов, ведущих к восстановлению соединений железа – обладает высокой ферриредуктазной активностью.

Метод основан на учете количества образующегося двухвалентного железа при взаимодействии окиси железа с почвой.

Ход анализа

На технических весах берут 1 г почвы в пробирку на 25 – 50 $см^3$, прибавляют 10 мг окиси железа в виде тонко измельченного порошка, перемешивают. Прибавляют пипеткой 1 $см^3$ дистиллированной воды, 1 $см^3$ 1%-го раствора глюкозы.

Пробирки ставят в анаэростат, закрывают его крышкой, подсоединяют к вакуумному насосу и медленно в течение 3–5 минут удаляют воздух до разрежения 0,9–1,0 атм (10 – 12 мм рт.ст.).

Анаэростат помещают в термостат при 37°С на 48 ч. После окончания инкубации медленно открывают анаэростат, впуская атмосферный воздух.

В пробирки (опытные и контрольные) прибавляют по 18 $см^3$ 0,5 М серной кислоты для экстрагирования восстановленного железа. Встряхивают 5 мин на ротаторе, фильтруют через беззольный фильтр, 10 $см^3$ фильтрата пипеткой переносят в мерные колбы на 25 $см^3$. Прибавляют цилиндром 12 $см^3$ ацетатного буфера, 1 $см^3$ 0,5%-го раствора 2,2′-дипиридила, доливают дистиллированной водой до метки, перемешивают и оставляют на 30 мин.

Колориметрируют на фотоколориметре с зеленым светофильтром в кюветах шириной 10 мм. Расчет производится по калибровочной кривой, составленной для стандартных растворов соли Мора. Коэффициент пересчета 200.

Активность ферриредуктазы выражают в миллиграммах восстановленного Fe_2O_3 на 100 г почвы за 48 ч.

Реактивы

1. Ацетатный буфер: 100 г CH_3COONa растворяют в 500 $см^3$ воды, добавляют 300 $см^3$ ледяной уксусной кислоты и доводят объем до 1 $дм^3$.
2. Стандартный раствор соли Мора (содержит 0,1 мг Fe в 1 $см^3$): 0,7022 г $FeSO_4(NH_4)_2SO_4\ 6\ H_20$ растворяют в холодной прокипяченной дистиллированной воде, подкисленной 2 $см^3$ концентрированной H_2SO_4, и разбавляют водой до 1 $дм^3$. Рабочие растворы железа готовят разведением стандартного раствора.
3. 0,5%-й раствор 2,2′-дипиридила.

Сульфатредуктаза (НАД · H_2: сульфат-оксидоредуктаза. КФ. 1.8.3)

Сульфатредуктаза катализирует восстановление сульфатов до сульфитов: $Na_2SO_4 + НАД \cdot H_2 \rightarrow Na_2SO_3 + H_2O + НАД$,

$Na_2SO_3 + НАД \cdot H_2 \rightarrow Na_2S + 3\,H_2O + 3\,НАД$.

Метод основан на учете уменьшения количества сульфатов в почве после анаэробной инкубации ее с субстратом (сернокислым натрием).

Ход анализа

На технических весах берут навеску почвы 1 г, помещают ее в пробирку. Прибавляют 20 мг $CaCO_3$, перемешивают. Приливают пипеткой 1 $см^3$ 0,25 М раствора Na_2SO_4 и 1 $см^3$ 5%-го раствора глюкозы в качестве донора водорода. Пробирки встряхивают и помещают в анаэростат, закрывают его крышкой, подсоединяют к вакуумному насосу и медленно удаляют воздух в течение 3–5 мин до разрежения 0,9–1,0 атм. и помещают в термостат при 37°С на 7 дней.

После инкубации анаэростат медленно открывают. Содержимое пробирок переносят дистиллированной водой в мерные колбы на 100 $см^3$, перемешивают и фильтруют через беззольный фильтр.

Берут пипеткой 25 $см^3$ фильтрата в коническую колбу на 200 $см^3$. Доливают цилиндром 100 $см^3$ дистиллированной воды, опускают кусочек индикаторной бумаги конго красного, подкисляют разбавленной HCl (1:1) до сине-фиолетовой окраски индикаторной бумаги (pH 3,0).

Колбу нагревают до кипения, из бюретки приливают в горячий раствор 10 $см^3$ осадительной смеси $BaCl_2$ + $MgCl_2$, хорошо перемешивают и оставляют на 2–3 часа или на сутки.

В раствор пипеткой вносят 2–3 капли 1%-го раствора Na_2S. Приливают пипеткой 2 $см^3$ 5%-го раствора гидроксиламина и нейтрализуют по каплям 10%-м раствором аммиака до изменения цвета индикаторной бумаги конго в красный (pH 5,2). Приливают цилиндром смесь NH_4Cl + NH_4OH (pH 10), добавляют индикатор хромоген черный или хром темно-синий. Титруют из бюретки 0,01 М раствором комплексона III до изменения окраски индикатора.

Примечание

1. Предварительно следует оттитровать осадительную смесь $BaCl_2$ + $MgCl_2$. Для этого берут пипеткой 25 $см^3$ осадительной смеси, разбавляют дистиллированной водой до 100 $см^3$, вносят 10 $см^3$ аммиачного буфера (pH 10), в присутствии индикатора хромогена черного титруют комплексоном III до исчезновения окраски в точке эквивалентности. Учитывается расход комплексона III на связывание присутствующих в анализируемом фильтрате ионов кальция и магния.

2. Отбирают 25 $см^3$ фильтрата, разбавляют дистиллированной водой до 100 $см^3$, прибавляют 3 капли 1% раствора Na_2S, добавляют 2 $см^3$ 5% раствора солянокислого гидроксиламина и 10 $см^3$ буферной смеси NH_4Cl + NH_4OH, 20 мг индикатора хромогена черного или хрома темно-синего, перемешивают и титруют трилоном Б (комплексон III) до изменения окраски в точке эквивалентности в голубой цвет.

Активность сульфатредуктазы (X) выражают в миллиграммах SO_3^{2} на 10 г почвы:

$$X = \frac{a - (б - в) \cdot p \cdot T_{SO_3^{2-}} \cdot 10}{н},$$

где *а* – количество $см^3$ трилона Б (комплексона III), затраченное на титрование пробы осадительной смеси $BaCl_2$ +$MgCl_2$; *б* – количество $см^3$ трилона Б, израсходованное на титрование анализируемого раствора после осаждения $BaSO_4$; *в* – количество $см^3$ трилона Б, затраченное на титрование суммы ионов Ca^{2+} + Mg^{2+}, в аликвоте раствора; $T_{SO_3^{2-}}$ – титр молярного раствора трилона Б по SO_3^{2-}; *н* — навеска воздушно-сухой почвы, г; *р* – разведение.

Реактивы

1. 0,25 М раствор Na_2SO_4 (содержит 24,01 мг SO_4^{2-} в 1 $см^3$).
2. Осадительная смесь $BaCl_2$ + $MgCl_2$.

а) 0,01 М раствор $BaCl_2$: растворяют 2,44 г $BaCl_2$ $2H_2O$ в дистиллированной воде, доводят до 1 $дм^3$.

б) 0,01 М раствор $MgCl_2$: 2,03 г $MgCl_2$ $6H_2O$ растворяют в дистиллированной воде и доводят до 1 $дм^3$. Оба раствора смешивают в равных объемах.

3. HCl (разбавленная 1:1).
4. 5%-й раствор глюкозы: 5 г глюкозы растворяют в 95 $см^3$ дистиллированной воды.
5. 10%-й раствор NH_4OH.
6. Буферная смесь NH_4Cl + NH_4OH (pH 10): 25 г «х.ч.» NH_4Cl растворяют в 100 $см^3$ воды, приливают 200 $см^3$ 20%-го раствора NH_4OH и доводят водой до 1 $дм^3$.
7. Раствор трилона Б 0,01 М, приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.
8. Хромоген черный: растирают в ступке 0,25 г хромогена черного с 25 г NaCl. (Установление титра молярного раствора комплексона III см. в разделе «Определение суммы Са и Mg в почве»).

MnO_2-редуктаза
(восстановленный НАД(Ф): MnO_2-оксидоредуктаза. КФ 1.6.99...)

В почве обнаружены дегидрогеназные системы, переносящие водород от окисленных органических соединений к кислороду двуокиси марганца, восстанавливая ее. Реакция протекает в анаэробных условиях. При этом соединения четырехвалентного марганца переходят в двухвалентную форму, доступную для растений, а на кислых почвах в больших количествах – токсичную для них:

$$MnO_2 + 4H^{+} + 2e^{-} \rightarrow Mn^{2+} + 2H_2O.$$

Метод определения MnO_2-редуктазы основан на учете количества восстановленной в почве окиси марганца персульфатным способом.

Ход анализа

1 г почвы помещают в пробирку на 50 $см^3$. Прибавляют 20 мг тонко измельченного MnO_2 и 20 мг $CaCO_3$, тщательно перемешивают. Добавляют 2 $см^3$ 1%-го раствора глюкозы, встряхивают.

Опытные и контрольные пробирки помещают в анаэростат, закрывают его крышкой, подсоединяют к вакуумному насосу и медленно, в течение 3–5 минут откачивают воздух до разрежения 0,9–1,0 атм. Анаэростат помещают в политермостат на 48 ч при температуре 37°С.

После инкубации медленно открывают анаэростат. В пробирки добавляют 25 $см^3$ 0,4%-го раствора Na_2SO_3 в 1 М растворе CH_3COONH_4 и взбалтывают 30 мин для экстрагирования восстановленного марганца.

5 $см^3$ фильтрата переносят в фарфоровую чашку и выпаривают досуха. Сухой остаток обрабатывают 1 $см^3$ концентрированной HNO_3 и 2 $см^3$ H_2O_2 для окисления органического вещества и удаления хлора. Эту обработку повторяют до получения белого осадка, который растворяют в 0,5 $см^3$ концентрированной HNO_3. Затем полученный раствор переносят водой в мерные колбы на 100 $см^3$. К раствору добавляют по 0,5 $см^3$ концентрированных H_2SO_4 и H_3PO_4, 1 $см^3$ 2%-го раствора $AgNO_3$ и 0,2 $см^3$ персульфата аммония или калия.

Колбу нагревают на электроплитке до появления первого пузырька. Персульфат прибавляют до появления устойчивой розовой окраски. Колбу охлаждают до комнатной температуры, объем раствора доводят до метки водой и колориметрируют, используя зеленый светофильтр и кюветы на 10 мм.

Количество восстановленной двуокиси марганца рассчитывают по предварительно составленному калибровочному графику для стандартных растворов $KMnO_4$.

Активность MnO_2-редуктазы выражают в миллиграммах окиси марганца на 10 г почвы за 48 ч.

Реактивы

1. MnO_2 (тонко измельченный порошок).
2. $CaCO_3$.
3. 1%-й раствор глюкозы: 1 г глюкозы растворить в 99 $см^3$ воды.
4. 0.4%-й раствор Na_2SO_3 7 H_2O в 1 М растворе CH_3COONH_4.
5. Концентрированные кислоты (HNO_3, H_2SO_4, H_3PO_4) и H_2O_2.
6. 2%-й раствор $AgNO_3$, $(NH_4)_2S_2O_3$ или $K_2S_2O_3$.
7. Стандартный раствор: 0,1 М $KMnO_4$ (1 $см^3$ этого раствора содержит 0,11 мг марганца).

ГИДРОЛАЗЫ

Гидролазы представлены весьма обширной группой ферментов. Наибольшее значение имеют те из них, которые расщепляют сложноэфирные, глюкозидные, пептидные, кислотно-ангидридные и некоторые другие связи в органических соединениях. Участвуя в реакциях гидролитического распада высокомолекулярных органических соединений, они играют важную роль в обогащении почвы подвижными и доступными растениям и микроорганизмам питательными веществами.

ПЕПТИД- И АМИДОГИДРОЛАЗЫ

В составе растительных остатков и микробных тел в почву поступает значительное количество белковых веществ, аминокислот и других азотсодержащих органических соединений. В превращении этих соединений большую роль играют присутствующие в почве протеолитические и дезаминирующие ферменты. В результате процессов последовательного протеолитического расщепления до аминокислот и распада под действием амидогидролаз и дезаминаз с выделением аммиака, азот белковых веществ превращается в доступную для высших растений форму. Это явление известно как процесс аммонификации.

Протеазы (пептид-гидролазы) (Пептидил-пептидгидролазы. КФ 3.4.4..)

Протеолитические ферменты катализируют гидролитическое расщепление белковых веществ до пептидов и дальнейший гидролиз их до аминокислот. Расщепление белков и пептидов происходит по месту пептидных связей по следующей схеме:

$$..NH-CH-CO-NH-CH-CO-NH-CH-COOH \rightarrow$$

$$\rightarrow NH_2-CH-COOH + ..NH-CH-CO-NH-CH-COOH.$$

При определении активности протеаз в почве в качестве субстрата обычно применяют казеин, желатин и некоторые пептиды.

Принцип метода основан на учете количества аминокислот, образующихся при протеолизе внесенных в почву белков путем связывания их в окрашенные комплексы.

Ход анализа

На технических весах берут навеску почвы 2 г в колбу Эрленмейера на 50 см^3. Приливают 10 см^3 1% раствора желатина или казеина, приготовленного на фосфатном буфере (pH 7,4) и 0,5 см^3 толуола. Колбу закрывают корковой пробкой, взбалтывают на ротаторе 3 мин и ставят в термостат на 24 ч при температуре 30°С. По истечении времени содержимое колбы фильтруют.

Берут аликвоту 5 см^3 в стеклянную пробирку, добавляют пипеткой 0,5 см^3 0,05 М раствора H_2SO_4.Приливают 3 см^3 20%-го раствора Na_2SO_4, который в слабокислой среде осаждает белки.

Еще раз фильтруют раствор в пробирку, прибавляют пипеткой 1 см^3 2%-го раствора нингидрина, взбалтывают.

Пробирку с раствором нагревают в кипящей водяной бане в течение 10 мин. Окрашенный раствор из пробирки переносят в мерную колбу на 50 см^3, доводят объем дистиллированной водой до метки, перемешивают.

Колориметрируют на ФЭКе в кюветах шириной 5 мм, используя зеленый светофильтр (длина волны 540 нм).

Активность протеазы (X) выражают в миллиграммах глицина на 100 г:

$$X = \frac{a \cdot p \cdot 100}{н},$$

где a – количество глицина по калибровочному графику, мг; p – разведение; $н$ – навеска почвы, г; *100* – пересчет на 100 г почвы.

Построение калибровочной шкалы. Чистый глицин (0,1 г) растворяют в 100 см^3 дистиллированной воды. 1 см^3 этого раствора содержит 1 мг глицина. Из основного раствора берут в мерные колбы на 50 см^3 2, 4, 6, 8, 10 см^3 раствора, добавляют все реактивы, как описано выше, окрашивают нингидрином.

Реактивы

1. 1%-й раствор желатина или казеина в фосфатном буфере (pH 7,4).
2. Фосфатный буфер (pH 7,4): готовят, смешивая растворы.

а) 11,876 г $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ растворяют в 1 дм^3 дистиллированной воды.

б) 9,078 г KH_2PO_4 растворяют в 1 дм^3 воды.

Смешать 800 см^3 раствора *«а»* и 200 см^3 раствора *«б»*.

3. 2%-й раствор нингидрина в ацетоне: 2 г нингидрина растворяют в 100 см^3 ацетона. Перед окрашиванием смешивают 95 см^3 ацетонового раствора нингидрина с 1 см^3 CH_3COOH и 4 см^3 воды. Раствор нестойкий, готовится непосредственно перед употреблением.
4. 0,05 М раствор H_2SO_4.
5. Толуол.

Уреаза (Карбамид-амидогидролаза. КФ 3.5.1.5)

Уреаза катализирует гидролиз мочевины. Конечными продуктами гидролиза являются аммиак и углекислый газ:

$$CO(NH_2)_2 \rightarrow 2\,NH_3 + CO_2 + H_2O$$

Мочевина попадает в почву в составе растительных остатков, навоза и как азотное удобрение. Она образуется и в самой почве в качестве продукта превращения азотистых органических соединений – белков и нуклеиновых кислот.

Ход анализ

В колбу Эрленмейера на 50 см^3 берут 5 г почвы, добавляют 10 см^3 фосфатного буфера (pH 6,7), 10 см^3 10%-го раствора мочевины. Колбу закрывают ватной или корковой пробкой, встряхивают и ставят в термостат при температуре 37°С на 24 ч.

После инкубации содержимое колбы фильтруют в мерную колбу (объем колбы выбирают в зависимости от содержания аммония). Сначала на фильтр переносят только жидкость, затем в колбу добавляют 15 см^3 1М раствора KCl, 5 мин встряхивают на ротаторе для вытеснения из почвы поглощенного аммония и продолжают фильтрование, объем фильтрата доводят до метки.

Далее количественное определение аммония, образовавшегося под действием мочевины можно проводить несколькими методами.

♦ *Определение количества аммония по Кьельдалю (полумикрометодом) и колориметрическим методом.*

При определении по Кьельдалю аликвоту фильтрата (объем подбирают в зависимости от активности уреазы – 10–20 $см^3$) переносят в колбу для отгона аммиака (по Кьельдалю).

♦ *Колориметрический метод* учета аммония с реактивом Несслера.

Из мерной колбы отбирают пробу 1–5–10 $см^3$ фильтрата (в зависимости от содержания аммиака) в мерную колбу на 50 $см^3$, добавляют примерно 30 $см^3$ дистиллированной воды, перемешивают. Добавляют 2 $см^3$ 50%-го раствора калия-натрия виннокислого, перемешивают. Прибавляют 2 $см^3$ реактива Несслера, перемешивают, доводят водой до метки, перемешивают.

Колориметрируют на фотоэлектроколориметре в кюветах шириной 10 – 20 мм с синим светофильтром (длина волны 400 нм).

Примечание. Если раствор опалесцирует, прибавляют еще 2 $см^3$ сегнетовой соли.

Разведение окрашенных растворов не допускается, поэтому если оптическая плотность раствора выше, чем предусмотрено калибровочным графиком, окрашивание повторяют, уменьшив аликвоту испытуемого раствора.

Количество аммония рассчитывают по предварительно составленному калибровочному графику.

Активность уреазы (X) выражают в миллиграммах $N–NH_4$ на 10 г почвы за сутки:

$$X = \frac{a \cdot p \cdot 100}{н},$$

где a — количество $N–NH_4$ по графику, мг, $н$ — навеска воздушно-сухой почвы, г; p — разведение; 100 – пересчет на 100 г почвы.

Реактивы

1. Фосфатный буфер с pH 6.7 готовят смешиванием 400 $см^3$ раствора $А$ и 600 $см^3$ раствора $Б$:

Раствор $А$: 11.876 г $Na_2HPO_4 \cdot H_2O$ растворяют в 1 $дм^3$ дистиллированной воды.

Раствор $Б$: 9.078 г KH_2PO_4 растворяют в 1 $дм^3$ воды.

2. Раствор KCl 1 М. Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ. Раствор не должен окрашиваться при добавлении фенолфталеина и реактива Несслера.

3. Раствор калия-натрия виннокислого (сегнетовой соли) 50%-й. Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

4. Реактив Несслера. Используют заводской реактив или приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

5. Образцовый раствор аммиачного азота: 0.3820 г перекристаллизованного NH_4Cl помещают в мерную колбу на 1 $дм^3$, растворяют в небольшом количестве безаммиачной воды, доводят водой до метки, перемешивают. Приготовленный

раствор содержит 0,1 мг $N–NH_4$ в 1 $см^3$. Рабочий раствор с содержанием 0,01 мг $N–NH_4$ в 1мл получают разбавлением запасного раствора в 10 раз и используют для построения калибровочной шкалы. Шкала сохраняет свою окраску не более 1 ч. При более длительном стоянии растворы мутнеют.

Примечание. Дистиллированную воду необходимо проверить на содержание аммиака. Если вода дает положительную реакцию на присутствие аммиака, прибавляют химически чистую соду до слабощелочной реакции и упаривают раствор на 1/4 объема. Безаммиачную воду хранят в бутыли с тубусом. Для улавливания аммиака в пробку бутыли вставляют трубку, заполненную $NaHCO_3$.

Аспарагиназа
(L-Аспарагин-амидогидролаза. КФ 3.5.1.1)

Аспарагиназа играет важную роль в азотном обмене и наряду с уреазой может отражать динамику азотсодержащих органических соединений в почве. Она катализирует гидролиз аспарагина, действуя на амидную связь. Аспарагин разлагается аспарагиназой на аспарагиновую кислоту и аммиак:

$$H_2N–CO–CH_2–CH(NH_2)–COOH \rightarrow HOOOC–CH_2–CH(NH_2)–COOH + NH_3$$

Метод определения аспарагиназной активности основан на учете количества аммиака, освобождающегося при гидролизе аспарагина в почве.

Ход анализа

Навеску почвы 5 г помещают в колбу на 50 $см^3$, добавляют 10 $см^3$ фосфатного буфера (pH 6,0), 5 $см^3$ 3% раствора аспарагина и 0,5 $см^3$ толуола. Колбу ставят в термостат при температуре 37°С на 24 ч. Затем фильтруют. Дальнейшее определение ведут по той же схеме, как при определении активности уреазы почвы (окрашивание с реактивом Несслера).

Активность аспарагиназы выражают в миллиграммах $N–NH_4$ на 10 г почвы за сутки.

Реактивы

1. 1 М раствор КС1: 74,5г хлористого калия растворяют в 1 $дм^3$ воды.

2. Раствор калия-натрия виннокислого (сегнетовой соли) 50%-й. Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

Примечание. Дистиллированная вода не должна содержать аммиака. Загрязненную воду очищают так же, как при определении активности уреазы.

3. 3%-й раствор аспарагина: 3 г заводского аспарагина растворяют в 97 $см^3$ дистиллированной воды.

4. Фосфатный буфер с pH 6,0 готовят смешиванием 121 $см^3$ раствора *А* и 879 $см^3$ раствора *Б*. Раствор *А* – в 1 $дм^3$ дистиллированной воды растворяют 11,876 г $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$; Раствор *Б* – в 1 $дм^3$ дистиллированной воды растворяют 9,078 г KH_2PO_4.

5. Реактив Несслера.

ФОСФОГИДРОЛАЗЫ

Аденозинтрифосфатаза (АТФ фосфогидролаза. КФ 3.6.1.3)

АТФаза катализирует гидролитическое расщепление АТФ на АДФ и ортофосфорную кислоту: $АТФ \rightarrow АДФ + H_3PO_4$

Метод основан на количественном учете фосфорной кислоты, отщепленной в результате ферментативной реакции при взаимодействии АТФ с почвой.

Ход анализа

На технических весах берут 1 г почвы в коническую колбу на 100 см^3. Прибавляют пипеткой 1 см^3 0,02 М раствора АТФ–Na. Пипеткой приливают 2 см^3 этаноламинацетатного буфера (pH 8,0 по индикаторной бумаге).

Примечание. Для определения активности АТФазы при pH почвы вместо буферного раствора добавляют дистиллированную воду.

Если анализируют ненасыщенные основаниями почвы, добавляют 1 см^3 0,2 М раствора ЭДТА для маскировки мешающих ионов Al и Fe.

Колбу закрывают корковой пробкой, встряхивают и ставят в термостат при 30°С на 1 ч. После инкубации в колбу добавляют 50 см^3 буферной смеси Труога, встряхивают на ротаторе 30 мин для экстрагирования фосфорной кислоты.

Фильтруют через беззольный фильтр. 10 см^3 фильтрата переносят пипеткой в мерную колбу на 50 см^3. Прибавляют пипеткой 2 см^3 сульфатмолибденовой жидкости, 3 капли хлористого олова, перемешивают, доводят до метки, перемешивают и через 20 мин колориметрируют с красным светофильтром (длина волны 650 нм).

Количественный учет фосфорной кислоты, отщепленной от АТФ под действием АТФазы, проводят по предварительно составленной калибровочной кривой.

Активность АТФазы (***X***) выражают в миллиграммах P_2O_5 на 100 г почвы за 1 ч:

$$X = \frac{a \cdot p \cdot 100}{н},$$

где a – количество P_2O_5 по калибровочному графику, мг; p – разведение; $н$ – навеска, г; 100 – пересчет на 100 г почвы.

Реактивы

1. 0,02 М раствор АТФ–Na.

2. Этаноламинацетатный буфер с pH 8.0: 25 см^3 0,2 М этаноламина + 50 см^3 0,1 М CH_3COOH + 25 см^3 H_2O).

3. ЭДТА: 0,1 М раствор этилендиаминтетраацетата.

4. Буферная смесь Труога: 3 г $(NH_4)_2SO_4$ и 20 см^3 0.05 М H_2SO_4 растворяют в дистиллированной воде, доводят до 1 дм^3.

5. Сульфатмолибденовая жидкость. Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

6. Раствор хлористого олова (восстановитель). Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

7. Стандартный раствор фосфата: 0,1917 г перекристаллизованного и высушенного при 40°С KH_2PO_4 растворяют в дистиллированной воде в колбе на 1 $дм^3$. 1 $см^3$ этого раствора содержит 0,1 мг P_2O_5.

Если к раствору прибавить антисептик (тимол, толуол, несколько капель уксусной, серной или 0,8 М борной кислот) и хранить в склянке из темного стекла, он годен к употреблению длительное время.

Рабочий раствор фосфата получают десятикратным разбавлением стандартного раствора и используют для приготовления шкалы стандартных растворов.

Фосфатазы (фосфогидролазы моноэфиров ортофосфорной кислоты. Щелочная фосфатаза. КФ 3.1.3.1. Кислая фосфатаза. КФ 3.1.3.2)

Фосфатазы относятся к группе ферментов, катализирующих гидролиз ортофосфорных эфиров различных спиртов и фенолов, фосфорорганических соединений, составляющих от 20 до 80% всех запасов фосфора почвы. Посредством воздействия фосфатаз происходит биохимическая мобилизация органического фосфора, он переводится в доступное для растений состояние. Гидролиз идет по фосфорноэфирным связям с отщеплением остатков ортофосфорной кислоты.

В почве присутствуют кислые (оптимум pH 4,5–5,5) и щелочные (оптимум pH 8,9–9,6) фосфатазы, гидролизующие моноэфиры с образованием минерального фосфора и органического радикала субстрата. В отличие от некоторых других фосфатаз (фосфоамидазы, АТФазы и др.) кислая и щелочная фосфатазы обладают широкой специфичностью.

Методы определения активности почвенных фосфатаз основаны на количественном учете отщепленного при ферментативной реакции неорганического фосфора или органической части молекулы субстрата – фосфорорганического соединения.

Активность щелочной фосфатазы определяют при pH 8 – 9, кислой при pH 5,3 – 5,4; общую фосфатазную активность почвы определяют при естественном pH почвы.

Определение активности фосфатазы

При определении фосфатазной активности в качестве субстрата используют моноэфиры фосфорной кислоты (фенолфталеин-фосфат натрия, β-глицерофосфат натрия).

Ход анализа

На аналитических весах берут навеску почвы 1 г, переносят в колбу Эрленмейера на 50 $см^3$. Приливают пипеткой 0,9 $см^3$ дистиллированной воды для увлажнения до 90%. Приливают пипеткой 1 $см^3$ 1%-го раствора фенолфталеинфосфата натрия, 3 капли толуола, закрывают корковой пробкой и взбалтывают на ротаторе 5 мин.

Ставят в термостат на 1 ч при температуре 30°С. Приливают цилиндром 45 см^3 дистиллированной воды и взбалтывают на ротаторе 5 мин. Фильтруют через беззольный фильтр в мерную колбу на 50 см^3. 20 см^3 фильтрата пипеткой переносят в пробирку, добавляют 2 см^3 10%-го аммиака, перемешивают.

Окрашенный раствор колориметрируют при зеленом светофильтре в кюветах шириной 5 мм. Количество фенолфталеина, соответствующее взятому объему фильтрата, находят по графику.

Примечание. Если растворы бурые, добавляют в колбу 1 см^3 насыщенного раствора алюмокалиевых квасцов.

Активность фосфатазы (*X*) выражают в миллиграммах P_2O_5 на 100 г почвы за 1 час

$$X = \frac{(а - б) \cdot р \cdot 0{,}45 \cdot 100}{н},$$

где *а* – количество фенолфталеина по графику опытного образца, мг; *б* – количество фенолфталеина по графику контрольного образца, мг; *н* – навеска почвы, г; *100* – пересчет на 100 г почвы; *0,45* – коэффициент перевода фенолфталеинфосфата натрия в P_2O_5, так как в субстрате одна молекула фенолфталеина связана с двумя молекулами фосфорной кислоты.

Реактивы

1. 1%-й раствор фенолфталеинфосфата натрия.
2. 10%-й водный аммиак.
3. Этиловый спирт-ректификат.
4. Насыщенный раствор алюмокалиевых квасцов.
5. Стандартный раствор фенолфталеина: 0,01 г фенолфталеина растворяют в 60 см^3 этилового спирта и объем доводят до 100 см^3. 1 см^3 этого раствора содержит 0,1 мг фенолфталеина. Далее отбирают аликвоты образцового раствора, соответствующие 0,02; 0,04; 0,06; 0,08; 0,1 мг P_2O_5 в 50 см^3, окрашивают, как и испытуемые растворы, колориметрируют и строят калибровочный график.

Определение активности фосфатазы с использованием в качестве субстрата β-глицерофосфата натрия

Ход анализа

Навеску почвы 1 г помещают в колбу Эрленмейера на 50 см^3, приливают 0,9 см^3 дистиллированной воды для увлажнения почвы до 90% (при определении активности щелочной и кислой фосфатаз вместо воды приливают такое же количество боратного буфера с pH соответственно 5,3 и 9,0). Затем прибавляют 1 см^3 раствора, содержащего 5 мг β-глицерофосфата натрия. Колбы закрывают пробками, взбалтывают 5 мин. на ротаторе и помещают в термостат при температуре 30°С на 1 час. После инкубации добавляют 45 см^3 воды, взбалтывают 5 мин. и фильтруют через беззольный фильтр в мерные колбы на 50 – 100 см^3.

Аликвоту фильтрата помещают в мерную колбу на 50 $см^3$. Дальнейшее определение содержания P_2O_5, отщепившегося от субстрата под действием фосфатаз, ведут после окрашивания по Дениже (см. определение активности АТФазы).

Реактивы

1. Раствор β-глицерофосфата натрия с содержанием 5 мг субстрата в 1 $см^3$.

2. Боратный буфер pH 9,0. Готовят 0,05 М раствор тетрабората натрия следующим образом: 12,404 г сухого реактива H_3BO_3 (борная кислота) растворяют в 100 $см^3$ 0,1 М NaOH и доводят объем до 1 $дм^3$ водой. 85,6 $см^3$ этого раствора в мерной колбе на 100 $см^3$ доводят до метки 0,1 М раствором HCl (pH раствора проверить).

3. Боратный буфер с pH 5,3 готовят разбавлением 0,05 М раствора тетрабората натрия 0,1 М раствором HCl до pH 5,3.

Глюкозидгидролазы

Глюкозидгидролазы – большая группа ферментов, катализирующих гидролиз ди-, три- и полисахаридов по глюкозидным связям в их молекулах. Углеводы и близкие к ним вещества содержатся в почвенном органическом веществе, микроорганизмах и растениях в значительном количестве. В почве обнаружены моно-, ди- и полисахариды (целлюлоза, гемицеллюлозы, крахмал и др.), поступающие в почву главным образом в составе растительных остатков, которые могут содержать до 60% углеводов. В биохимическом превращении этих веществ участвует специфический фермент или группа ферментов.

β-Фруктофуранозидаза (инвертаза) (β-Фруктофуранозид-фруктогидролаза. КФ 3.2.1.26)

β-Фруктофуранозидазу обнаруживают во всех почвах, она является одним из важных ферментов, характеризующих биологическую активность почвы.

β-Фруктофуранозидаза (сахараза, инвертаза) действует на гликозильные соединения: гидролизует сахарозу, рафинозу, генцианозу и стахиозу; катализирует фруктотрансферазные реакции. При расщеплении сахарозы на глюкозу и фруктозу разрывается связь, находящаяся у β-глюкозидного углеродного атома остатка фруктозы в молекуле сахарозы.

Метод основан на использовании редуцирующих свойств глюкозы и фруктозы, образующихся при гидролизе сахарозы, – способности восстанавливать окисную медь до закисной (метод Бертрана). Сумму редуцирующих гексоз выражают в глюкозном эквиваленте.

Количественное определение глюкозы и фруктозы образовавшихся после гидролиза сахарозы можно определять с пикриновой кислотой (см. раздел «Анализ растений»).

Ход анализа

Навеску почвы 5 г помещают в колбу Эрленмейера на 50 $см^3$. Добавляют пипеткой 10 $см^3$ 5%-го раствора сахарозы, приливают цилиндром 10 $см^3$ ацетатного буфера (pH 4,7) и 0,5 $см^3$ толуола. Закрывают колбу корковой пробкой, 3 мин взбалтывают на ротаторе и ставят в термостат при 37°С на 24 ч.

После инкубации реакционную смесь фильтруют в мерные колбы (емкость колбы зависит от количества продукта реакции – 100, 200 $см^3$ и т.д.). Далее определение сахаров ведут по одному из методов, описанных в разделе «Анализ растений».

Определение сахаров по методу Бертрана

Пипеткой отбирают 10–20 $см^3$ фильтрата (в зависимости от активности инвертазы) в колбу Эрленмейера на 100 $см^3$, сразу же приливают раствор Феллинга (если аликвота из раствора сахаров 10 $см^3$, добавляют 10 $см^3$ 4%-го раствора сернокислой меди и 10 $см^3$ раствора сегнетовой соли; если аликвота 20 $см^3$, берут по 20 $см^3$ сернокислой меди и сегнетовой соли), перемешивают и ставят на горелку или электроплитку и кипятят по песочным часам 3 мин.

С помощью водоструйного или масляного насоса фильтруют горячий раствор через трубку Аллина в колбу Бунзена.

Промывают колбу и трубку Аллина с осадком закисной меди от щелочи 7–8 раз горячей дистиллированной водой, не оставляя осадок закиси меди на воздухе. Трубку Аллина с промытым осадком переносят в малую колбу Бунзена, растворяют осадок 15–20 $см^3$ раствора железо-аммиачных квасцов, приливая их сначала в колбу Эрленмейера, а затем в трубку Аллина. Колбу и трубку несколько раз промывают небольшими порциями горячей воды.

Раствор в колбе Бунзена титруют из бюретки 0,1 М раствором перманганата калия до слабо-розовой окраски.

Для *расчета содержания сахаров* в объеме раствора, взятого для анализа, количество перманганата (с учетом поправки к титру) умножают на 6,36, так как 1 $см^3$ 0,1 М $KMnO_4$ эквивалентен 6,36 мг Cu_2O. По весу закиси меди находят соответствующее количество глюкозы (см. таблицу 25 в ПРИЛОЖЕНИИ). Таким же способом определяют содержание глюкозы в контроле.

После внесения поправки на контроль рассчитывают *активность инвертазы* (X) в мг глюкозы на 100 г почвы за сутки:

$$X = \frac{a \cdot p \cdot 100}{н},$$

где a – количество глюкозы в объеме раствора, взятого для анализа за вычетом контролей (находят по таблице 25 в приложении), мг; p – разведение; $н$ – навеска почвы, г.

Реактивы

1. 5%-й раствор сахарозы.
2. Ацетатный буфер (pH 4,7). *«А»* 1М раствор уксусной кислоты; *«Б»* 1М раствор CH_3COONa – 136,09 г соли растворяют в 1 $дм^3$ дистиллированной воды. Растворы *«А»* и *«Б»* смешивают в равных количествах.
3. Раствор Феллинга. Приготовление см. В ПРИЛОЖЕНИИ.
4. Раствор железоаммонийных квасцов: 86 г железоаммонийных квасцов растворяют в воде и приливают 108,7 $см^3$ концентрированной H_2SO_4, доводят объем до 1 $дм^3$.
5. 0,1 М титрованный раствор $KMnO_4$: 3,161 г перманганата калия растворяют в дистиллированной воде и доводят водой в мерной колбе до 1 $дм^3$. Реактив годен для использования через несколько дней.

Колориметрический метод определения количества глюкозы

Ход анализа

Пипеткой помещают 6 $см^3$ фильтрата в большую пробирку. Добавляют пипеткой 3 $см^3$ 50%-го раствора сегнетовой соли (калий-натрий виннокислый), 3 $см^3$ 4%-го раствора сернокислой меди, перемешивают.

Пробирку с раствором нагревают на кипящей водяной бане 10 мин, охлаждают, содержимое переносят в центрифужную пробирку, центрифугируют 7 мин при 3000 тыс. об./мин.

Колориметрируют при длине волны 630 нм в кюветах шириной 10 мм.

Количество глюкозы в мг находят по калибровочному графику.

Исходный стандартный раствор: содержит 1 мг глюкозы в 1 $см^3$ дистиллированной воды.

α- и β-Амилазы

(α-Амилаза: α-1,4-глюкан-4-глюканогидролаза. КФ 3.2.1.1; β-Амилаза: β-1,4-глюкан-мальтогидролаза. КФ 3.2.1.2)

Ферменты амилазы осуществляют гидролиз крахмала, который входит в состав органических остатков, попадающих в почву, с образованием декстринов и мальтозы.

В природе встречаются два типа амилаз: α-амилаза гидролизует α-1,4-глюкановые связи в полисахаридах (крахмале, гликогене и родственных поли- и олигосахаридах, содержащих три или более остатков *d*-глюкозы, соединенных α-1,4-связями); β-амилаза гидролизует β-1,4-глюкановые связи в полисахаридах (крахмале, гликогене и родственных поли- и олигосахаридах), последовательно отщепляя остатки мальтозы и образуя путем инверсии β-мальтозу.

В почвах преобладает β-амилаза. Методы определения активности амилазы почвы основаны на количественном учете редуцирующих сахаров по Бертрану (табл. 26 в ПРИЛОЖЕНИИ). В молекуле амилазы остатки глюкозы связаны β-глюкозидными связями между 1-м и 4-м углеродными атомами и образуют длинную цепочку.

Ход анализа

Навеску почвы 5 г помещают в коническую колбу на 100 см^3. Приливают 10 см^3 2% раствора крахмального клейстера, затем 15 см^3 ацетатного буфера (pH 5,9) и 0,5 см^3 толуола. Колбу закрывают корковой пробкой, взбалтывают на ротаторе 3 мин и ставят в термостат при температуре 37° С на 24 ч. Затем содержимое колбы фильтруют в мерную колбу на 100 см^3. После 3 – 4-кратного промывания почвы водой на фильтре раствор доливают водой до метки. Редуцирующие сахара определяют по Бертрану или колориметрически.

Количество мальтозы, соответствующее количеству закиси меди, находят по таблице 26 в ПРИЛОЖЕНИИ.

Активность амилазы (*X*) выражают в миллиграммах мальтозы, образовавшейся за сутки на 10 г почвы: $X = \frac{a \cdot p \cdot 10}{н}$,

где *а* – количество мальтозы в объеме раствора, взятом для анализа, находят по таблице, мг; *р* – разведение; *н* — навеска почвы, г; *10* – пересчет на 10 г почвы.

Реактивы

1. Ацетатный буфер (pH 5.9): готовят смешиванием 100 см^3 1 М раствора CH_3COOH и 1600 см^3 1 М раствора CH_3COONa.
2. 2%-й раствор крахмала: 2 г крахмала размешать в 20 см^3 холодной воды, вливают в 80 см^3 кипящей воды и нагревают на кипящей водяной бане до просветления раствора.
3. Толуол.

Целлюлаза (β-1,4-глюкан-глюкогидролаза. КФ 3.2.1.4)

Ход анализа

Навеску 10 г почвы помещают в колбу Эрленмейера на 50 см^3. Приливают 5 см^3 ацетатного буфера (pH 5,5), 5 см^3 1%-го раствора карбоксиметилцеллюлозы (КМЦ), 1,5 см^3 толуола, перемешивают. Колбу закрывают пробкой и ставят в термостат при 35°С на 48 – 72 ч в зависимости от активности фермента.

После инкубации нагревают колбу на кипящей водяной бане. Пипеткой прибавляют 0,3 см^3 насыщенного раствора алюмокалиевых квасцов для осаждения КМЦ. Фильтруют через беззольный фильтр в мерную колбу на 50 см^3, объем фильтрата доводят дистиллированной водой до метки.

Аликвоту фильтрата 2 см^3 помещают в термостойкие пробирки объемом 40–50 см^3. Прибавляют 4 см^3 антронового реактива и через 30 мин. колориметрируют с синим светофильтром (длина волны 551 нм) в кюветах на 10 мм.

В кювету сравнения наливают раствор из контрольной колбы без субстрата после прибавления к ней тех же реактивов, что и в опытную колбу.

Количество образовавшейся глюкозы рассчитывают по предварительно составленному калибровочному графику.

Целлюлазную активность выражают в миллиграммах глюкозы на 10 г почвы.

Реактивы

1. 1%-й раствор карбоксиметилцеллюлозы (КМЦ).
2. Антроновый реактив: 0,2 М раствор антрона в 95%-й H_2SO_4. К 5 $см^3$ воды прибавляют 100 $см^3$ концентрированной серной кислоты, охлаждают и добавляют 200 мг антрона, оставляют на 4 ч на льду. Использовать только свежеприготовленный реактив.
3. Стандартный раствор глюкозы для составления калибровочной кривой: в 3,5 $см^3$ раствора глюкозы (от 10 до 200 мкг глюкозы в 1 $см^3$ воды) добавить 5 $см^3$ антрона и колориметрировать.
4. Насыщенный раствор алюмокалиевых квасцов.
5. Толуол.

Раздел III

АНАЛИЗ РАСТЕНИЙ

Анализ растений позволяет решить следующие задачи.

1. Исследовать трансформацию макро- и микроэлементов в системе почва – растение удобрения при различных режимах выращивания растений.
2. Определить содержание основных биокомпонентов в растительных объектах и кормах: белков, жиров, углеводов, витаминов, алкалоидов и соответствие их содержания принятым нормам и стандартам.
3. Оценить меру пригодности растений для потребителя (нитраты, тяжёлые металлы, алкалоиды, токсиканты).
4. Произвести диагностику обеспеченности растений питательными веществами.
5. По признакам обеспеченности производить подкормки.

Отбор растительной пробы

Отбор растительной пробы ответственный этап работы, требует определённых навыков и опыта. Ошибки при отборе пробы и подготовке к анализу не компенсируются качественной аналитической обработкой собранного материала.

При отборе проб растений в агро- и биоценозе основная цель – средняя проба растений, которая должна наиболее полно отражать биологическое состояние растений, т.е. быть репрезентативной для поля, опытной делянки, выбранной площадки, вегетационного сосуда. Чтобы средняя проба отражала статус всей совокупности растений, учитывают макро- и микрорельеф, гидротермические условия, равномерность и густоту стояния растений, их биологические особенности.

Растительные пробы отбираются в сухую погоду, в утренние часы, после высыхания росы. При изучении процессов обмена веществ в растениях в динамике эти часы соблюдаются в течение всего вегетационного периода.

Различают культуры сплошного сева: пшеница, овёс, ячмень, злаковые культуры, травы и др. и пропашные: картофель, кукуруза, свекла и т.п.

Для культур сплошного сева на опытном участке выделяются равномерно 5 – 6 площадок размером 0,25 – 1,00 м^2, растения с площадки скашиваются на высоте 3 – 5 см. Общий объём взятого материала составляет объединенную пробу. После тщательного усреднения этой пробы отбирают средний образец массой 1 кг. Проводят взвешивание средней пробы, а затем разбор по ботаническому составу, учёт сорняков,

больных растений, которые исключают из состава пробы. Проводят также разделение растений на органы с весовым учётом в пробе листьев, стеблей, початков, цветов, колосьев. Молодые растения от всходов до кущения обычно не дифференцируют по органам и фиксируют целиком.

В вегетационных сосудах пробы этих растений отбираются следующим образом: из каждого сосуда берётся равное количество растений или из 2–3 сосудов каждого варианта растения срезаются полностью, первый приём используют чаще.

Для культур пропашных, особенно высокостебельных, таких как кукуруза, подсолнечник и т.д. объединенную пробу составляют из 10 – 20 растений средней величины, взятых по диагонали делянки или поочерёдно в несмежных рядах.

При отборе корнеплодов выкапывают 10 – 20 растений средней величины, очищают от почвы, подсушивают, взвешивают, отделяют надземные органы и взвешивают корнеплоды. По состоянию этих компонентов определяют структуру урожая.

Среднюю пробу составляют с учётом размера клубней, початков, корзинок и т.п. Для этого материал сортируют визуально на большие, средние, малые и соответственно долевому участию фракции составляют средний образец. У высокостебельных культур проба может усредниться за счёт продольного расчленения всего растения от верхушки до основания.

В производственных условиях пробы зерна, муки, гранулированных кормов, силоса, сенажа, соломы, овощных, плодовых, ягодных культур отбирают из больших объёмов пробоотборниками в соответствии с инструкциями отраслевых стандартов (см. специальную литературу) или ГОСТов.

Критерием оценки правильного отбора пробы является сходимость результатов химического анализа при параллельных определениях.

Скорость химических реакций в растительных образцах, взятых в период активной вегетации, намного выше, чем во многих анализируемых объектах (например, зерно, солома, семена). За счёт работы ферментов продолжаются биохимические процессы, в результате которых происходит разложение таких веществ, как крахмал, белки, органические кислоты и особенно витамины.

Задачи исследователя – сократить до минимума срок от взятия пробы до проведения анализа или фиксации растительного материала. Снижения скорости реакций можно добиваться работой со свежими растениями на холоде в климатокамере (+ 4°С), а также кратким хранением в бытовом холодильнике на нижней полке.

В свежем растительном материале при естественной влажности проводят определение водорастворимых форм белков, углеводов, ферментов, калия, фосфора, определяют содержание нитратов и

нитритов. С небольшой погрешностью эти определения можно выполнять в образцах растений после лиофильной сушки.

В фиксированных воздушно-сухих образцах определяют все макроэлементы, т.е. зольный состав растений, общее содержание белков, углеводов, жиров, клетчатки, пектиновых веществ. *Высушивание растительных образцов до абсолютно сухого веса для проведения анализа недопустимо, так как нарушаются растворимость и физико-химические свойства многих органических соединений, происходит необратимая денатурация белков.*

При анализе технологических свойств любых объектов, в том числе зерна, соломки льна, допускается сушка при температуре не более 30°С. Повышенные температуры изменяют свойства белково-углеводных комп-лексов в растениях и искажают результаты определения.

Фиксация растительного материала

Сохранение органических и зольных веществ в растительных пробах в количествах, близких к их естественному состоянию, осуществляется за счёт фиксации. В настоящее время применяется температурная фиксация и лиофильная сушка, при которой растительные ферменты сохраняются в активном состоянии, а белки не денатурируют.

Температурная фиксация растительного материала проводится в сушильном шкафу, лучше с принудительной вентиляцией. Растительный материал помещают в пакеты из плотной бумаги типа «крафт» и загружают в сушильный шкаф, предварительно нагретый до 105–110°С. После загрузки выдерживают температуру 90–95°С в течение 10–20 мин в зависимости от свойств растительного материала. При такой температурной обработке за счёт паров воды происходит инактивация растительных ферментов.

Окончание фиксации проверяют следующим образом: вынимают из шкафа образцы, разворачивают – растительный материал должен быть влажным и вялым при этом он должен сохранить свою окраску, т.е. не пожелтеть. Дальнейшее высушивание пробы проводят при доступе воздуха в открытых пакетах при температуре 50–60°С в течение 3 – 4 ч. Превышать указанные интервалы температуры и времени не следует. Длительное нагревание при высокой температуре приводит к термическому разложению многих азотсодержащих веществ и карамелизации углеводов растительной массы.

Растительные образцы с большим содержанием воды – корнеплоды, фрукты, ягоды и т.п. – разделяют на сегменты так, чтобы в анализ попали периферийные и центральная части плода. Набор сегментов для пробы составляют из сегментов больших, средних и маленьких плодов или клубней в соответствующем соотношении их в урожае. Сегменты средней пробы измельчают и фиксируют в эмалированных кюветах.

Если образцы объёмны, то надземную часть растений: листья, стебли, цветы, черешки, корзинки и т.д. – непосредственно перед фиксацией измельчают ножом или ножницами и быстро закрывают в пакеты.

Если в образцах предполагается определение только набора химических элементов, их можно не фиксировать, а высушить при комнатной температуре. Однако высушивание растительного материала лучше провести в термостате при температуре 40 – 60°С так как при комнатной температуре возможно загнивание массы и загрязнения пылевыми частицами из атмосферы.

Не подвергают температурной фиксации образцы зерна и семян, но высушивают их при температуре не выше 30°С.

Лиофилизация растительного материала (высушивание путём возгонки) основана на испарении льда, минуя жидкую фазу. Высушивание материала при лиофилизации проводится следующим образом: отобранный растительный материал замораживают до твёрдого состояния, заливая образец жидким азотом. Затем образец помещают в лиофилизатор где при низкой температуре и в условиях вакуума происходит высушивание. При этом влага поглощается специальным осушителем (реактивом), в качестве которого используется силикагель, хлористый кальций и т.д. Лиофильная сушка подавляет ферментативные процессы, но сами ферменты сохраняются.

Размол растительных образцов и их хранение

Размол растений проводят в воздушно-сухом состоянии. Скорость размола увеличивается, если образцы предварительно подсушиваются в термостате. Отсутствие в них гигроскопической влаги определяется визуально: хрупкие, легко разламывающиеся в руках стебли и листья – наиболее пригодный материал для размола. Образцы для размола можно предварительно измельчить ножницами. Для размола объёмных образцов, весом более 30 г используют лабораторные мельницы ПРП-1, для размола небольших проб используют бытовые кофемолки типа «Пируэт». При очень малых количествах растительные пробы можно измельчить в фарфоровой ступке с последующим пропусканием материала через сито.

Измельчённый материал просеивается через сито. Диаметр отверстий зависит от специфики анализа: от 1 мм до 0,25 мм. Если в анализе не оговаривается особо тонина помола материала, берут сито 1 мм. Часть материала, не прошедшая через сито, повторно измельчается на мельнице или в ступке. «Отброс» растительного материала не допускается, так как это изменяет состав средней пробы. Например, при размоле зерна на сите остаются отруби, которые с трудом измельчаются и не проходят через сито с первого просеивания. «Отброс» отрубей приводит к грубым

ошибкам при анализе, в результате анализируется мука грубого помола (в основном эндосперм), а не целое зерно.

После размола каждого образца рабочие органы мельницы и рабочую ёмкость тщательно очищают ёршиком и сухой хлопчатобумажной тканью. Только после этого приступают к размолу следующего образца.

При большом объёме размолотых образцов можно снизить объём, перейдя от средней лабораторной пробы к средней аналитической, вес последней составляет 10 – 50 г, а для зерна не менее 100 г. Отбор производится методом квартования. Лабораторная проба равномерно распределяется на бумаге или стекле в виде круга или квадрата. Шпателем делится на мелкие квадратики (2 – 3 см) или сегменты. Материал из несмежных квадратиков отбирается в аналитическую пробу.

Определение в растениях «сырой» золы

Сухое вещество растений содержит в себе как органические, так и минеральные соединения. Последние остаются после сжигания органического вещества в виде «сырой» золы и составляют в среднем от 5 до 15% сухого вещества растений. «Сырой» золу называют потому, что в ней, помимо зольных элементов растений, содержатся некоторые примеси – углистые частицы, песчинки, плохо смытая почва.

Количество золы и её состав зависят от вида, органа, возраста растений, почвенно-климатических условий, применяемых форм и доз минеральных удобрений и других факторов.

Для определения в растениях «сырой» золы используют метод сухого озоления растительного материала.

Метод основан на сжигании органического вещества при высокой температуре в муфельной печи. Метод прост и может использоваться во всех лабораториях. В полученной этим путём золе можно определить те элементы, которые не теряются вследствие образования легколетучих соединений при температуре 500–600°С. К ним относятся калий, кальций, магний, алюминий, марганец и т.д. Можно проводить озоление как сухих, так и свежих растений.

Ход анализа

Фарфоровые чашечки объёмом 25–50 $см^3$ в течение 2–3 ч прокалить в муфельной печи при температуре 500–600°С, доведя до постоянного веса. Взвешивать на аналитических весах с точностью до ± 0,0002 г. Поместить в эксикатор.

На аналитических весах с такой же точностью взять 1 г воздушно-сухого растительного материала. Навеску в чашечке укладывать рыхло для свободного доступа кислорода. Во время озоления содержимое чашечки не перемешивают.

Первоначальное озоление растительного материала ведут при доступе воздуха на электроплитке или газовой горелке. Нагревание слабое, обугливание осуществляется без возгорания и покраснения пробы. Если наблюдается покраснение, чашку снимают и возгорание прекращают, накрывая пробу часовым стеклом.

Через 15 – 20 мин, когда материал почернеет и прекратится выделение дыма, перенести чашечки в нагретую муфельную печь. Вести озоление в течение 1,5 – 2 ч при температуре не выше 500°С, так как при более высокой температуре будут потери хлорида калия, хлорида натрия, оксида фосфора и натрия.

Осторожно перенести чашечки в эксикатор, охладить до комнатной температуры и взвесить на аналитических весах.

Повторить прокаливание чашек с навеской в течение 40 – 60 мин, охладить и взвесить. Проводить прокаливание до получения постоянного веса чашки с золой. Обычно это достигается после второго прокаливания. Если вес золы после третьего прокаливания увеличивается, анализ прекращают, ведут расчет на меньшую величину.

Расчёт

$$Зола\ [\%] = \frac{a \cdot 100}{H},$$

где a – вес золы, г; H – навеска воздушно-сухого материала, взятого для озоления, г; 100 – для выражения в процентах.

Вес золы (*г*) определяется по разности между последним весом чашечки с золой и весом пустой прокалённой чашечки.

Форма записи

Вариант опыта	№ чашки	Вес чашки, г	Вес чашки с навеской, г	Навеска, г	Вес чашки с золой, г			Вес золы, г	Зола, %
					1	2	3		

Растворение золы

Для определения качественного состава «сырой золы» её надо растворить.

Ход анализа

Золу в чашечке следует осторожно смочить несколькими каплями дистиллированной воды для избежания потерь. Прилить 5 см^3 20%-го раствора HCl и тщательно размешать содержимое чашечки небольшой стеклянной палочкой. Работу вести под тягой.

Прилить 15–20 см^3 горячей дистиллированной воды для более полного растворения золы и снижения концентрации раствора перед фильтрованием. Фильтровать раствор по палочке через небольшую воронку с беззольным фильтром в мерную колбу на 100 см^3, промывая чашечку и фильтр несколько раз горячей дистиллированной водой.

Охлаждённый раствор довести до метки водой, закрыть пробкой, взболтать.

В полученном растворе определяют содержание калия на пламенном фотометре, кальция и магния комплексонометрически.

Фосфор можно определить фотометрически, если безупречно проведено озоление растительного материала.

Мокрое озоление растительного материала по Гинзбург и определение азота, фосфора, калия из одной навески

В основу метода положены реакции гидролиза и окисления органических веществ растений смесью серной и хлорной кислот в соотношении 10:1 при нагревании. Основным окислителем является хлорная кислота ($HClO_4$).

Безазотистые органические вещества окисляются до воды и углекислоты, высвобождая зольные элементы в виде оксидов. Азотсодержащие органические соединения гидролизуются и в конечном счёте, окисляются до воды и углекислоты, освобождают азот в виде аммиака, который немедленно связывается серной кислотой.

Таким образом, в растворе находятся зольные элементы в виде оксидов и азот в форме сернокислого аммония и аммонийной соли хлорной кислоты.

Метод мокрого озоления исключает потери азота, фосфора и калия в виде их оксидов, так как растительное вещество озоляется при температуре 332°С. Это температура кипения серной кислоты, у хлорной кислоты значительно меньшая температура кипения – 121°С.

Необходимо помнить, что при добавлении избытка хлорной кислоты в процессе озоления происходят значительные потери азота (до 50%).

Ход анализа

Навеску размолотого воздушно-сухого растительного материала 0,2 – 0,5 г, взятую на аналитических весах с точностью до ± 0,0001 г, помещают в колбу Кьельдаля.

Навески в колбах Кьельдаля заливают смесью серной и хлорной кислот в объёме 5,0–10,0 $см^3$ (соотношение 10:1) и тщательно перемешивают круговым вращением колбы, осторожно встряхивая.

Оставляют колбы в лотке на 1,5 – 2 ч (можно на ночь) для первичного озоления растительного материала при комнатной температуре.

После этого колбы устанавливают на нагревательные приборы для дальнейшего озоления и нагревают на слабом огне до образования однородной коричнево-бурой массы.

Температуру озоления повышают до слабого кипения раствора и продолжают озоление до полного его обесцвечивания.

Если раствор продолжает оставаться окрашенным в жёлтый или тёмно-бурый цвет, колбы охлаждают, добавляют 2–3 капли хлорной кислоты и продолжают нагревание. Количество хлорной кислоты, добавленное сверх указанной нормы, ускоряет процесс озоления, но приводит к существенным потерям азота в пробе.

Параллельно проводят контрольное озоление исходных реактивов без растительной пробы в аналогичном режиме.

После окончания озоления колбы Кьельдаля охлаждают на воздухе, затем в них приливают 10 $см^3$ дистиллированной воды и после перемешивания содержимого вновь охлаждают, доливают около 60 $см^3$ горячей дистиллированной воды.

Раствор из колбы Кьельдаля количественно переносят в мерную колбу на 100 $см^3$. При этом колбу Кьельдаля многократно промывают небольшими (около 5 $см^3$) порциями горячей дистиллированной воды, сливая промывные воды в мерную колбу. После охлаждения объём в мерной колбе доводят до метки дистиллированной водой и после этого, закрыв пробкой, перемешивают.

В растворе определяют общий азот, фосфор и калий по соответствующим методикам.

Реактивы

1. Серная кислота концентрированная (d = 1,89).
2. Хлорная кислота концентрированная.

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМ АЗОТА В РАСТИТЕЛЬНОМ МАТЕРИАЛЕ

Определение содержания общего азота по Кьельдалю

Азот, поглощённый растением в процессе вегетации, распределяется по органам растений неравномерно. Более высокое содержание азота наблюдается в генеративных органах, особенно в зерне, и меньше его концентрация в листьях, стеблях, корнях, корнеплодах, очень мало в соломе. Общий азот в растении представлен двумя формами: азотом белковым и азотом небелковых соединений. К последним относится азот, входящий в состав амидов, свободных аминокислот, нитратов и аммиака.

Содержание белка в растениях определяют по количеству белкового азота. Содержание белкового азота (в процентах) умножают на коэффициент 6,25 при анализе вегетативных органов и корнеплодов и на 5,7 при анализе зерна.

На долю небелковых форм азота приходится в вегетативных органах 10–30% от общего азота, а в зерне – не более 10%. Содержание небелкового азота к концу вегетации снижается, поэтому в производственных условиях, особенно при анализе кормов, долей небелкового

азота пренебрегают. Определяют в этом случае общий азот (в процентах) и его содержание пересчитывают на белок. Этот показатель называется «сырой белок».

Принцип метода. Навеску растительного материала озоляют в колбе Кьельдаля концентрированной серной кислотой в присутствии одного из катализаторов: металлического селена, перекиси водорода, хлорной кислоты и т.п. Температура озоления 332° С. В процессе гидролиза и окисления органической массы азот в колбе сохраняется в растворе в виде сульфата аммония. Для освобождения аммиака используют 40%-ный раствор щёлочи:

$$(NH_4)_2SO_4 + 2\ NaOH \rightarrow Na_2SO_4 + 2\ NH_4OH.$$

Отгон аммиака ведут в аппарате Кьельдаля при нагревании и кипении раствора. В кислой среде нет гидролитической диссоциации сульфата аммония, парциальное давление аммиака равно нулю. В щёлочной среде происходит смещение равновесия, и в растворе образуется аммиак, который при нагревании легко улетучивается:

$$2\ NH_4OH = 2\ NH_3\uparrow + 2\ H_2O.$$

Аммиак не теряется, а переходит по холодильнику вначале в виде газа, а затем, конденсируясь, каплями попадает в приёмник с титрованной серной кислотой и связывается ею, вновь образуя сернокислый аммоний:

$$2\ NH_3 + H_2SO = (NH_4)_2SO_4.$$

Избыток кислоты, не связанный с аммиаком, оттитровывается щёлочью точно установленной нормальности по комбинированному индикатору или по метилроту.

Ход анализа

На аналитических весах взять навеску растительного материала 0,3 – 0,5 ± 0,0001 г с помощью пробирки (по разности между весом пробирки с навеской и весом пробирки с остатками материала) и, надев на конец пробирки резиновую трубку длиной 12–15 см, осторожно опустить навеску на дно колбы Кьельдаля. Прилить в колбу небольшим цилиндром 10–12 см^3 концентрированной серной кислоты (d = 1,84). Равномерное озоление растительного материала начинается уже при комнатной температуре, поэтому залитые кислотой навески лучше оставить на ночь.

Поставить колбы на электроплитку или специальную установку и проводить постепенное сжигание вначале на слабом огне (положить асбест), затем на сильном, периодически осторожно взбалтывая. Когда раствор станет однородным, прибавить катализатор (несколько кристаллов селена или несколько капель перекиси водорода) и продолжить сжигание до полного обесцвечивания раствора.

Катализаторы. Повышению температуры кипения серной кислоты и ускорению озоления способствует применение катализаторов. В различных модификациях метода Кьельдаля используют металлические

ртуть и селен, сернокислый калий, сернокислую медь, перекись водорода. Использовать для сжигания в качестве катализатора хлорную кислоту отдельно или в смеси с серной кислотой не рекомендуется. Скорость окисления материала обеспечивается в этом случае не за счёт повышения температуры, а за счёт быстрого выделения кислорода, что сопровождается потерями азота при озолении.

Отгон аммиака. После окончания сжигания колбу Кьельдаля охлаждают и в неё осторожно приливают по стенкам дистиллированную воду, перемешивают содержимое и ополаскивают горлышко колбы. Первую порцию воды наливают до горлышка и количественно переносят в круглодонную колбу ёмкостью 1 дм^3. Колбу Кельдаля ещё 5 – 6 раз промывают небольшими порциями горячей дистиллированной воды, сливая каждый раз промывные воды в отгонную колбу. Наполняют отгонную колбу промывными водами до 2/3 её объёма и добавляют 2 – 3 капли фенолфталеина. Малое количество воды затрудняет парообразование при отгоне, а большое может вызвать переброс кипящей воды в холодильник.

В коническую колбу или химический стакан ёмкостью 300 – 400 см^3 (приёмник) наливают из бюретки 25 – 30 см^3 0,1 н. H_2SO_4 (с точно установленным титром), добавляют 2 – 3 капли индикатора метилрота или реактива Гроака (лиловая окраска). Кончик трубки холодильника погружают в кислоту. Отгонную колбу ставят на нагреватель и подсоединяют к холодильнику, проверяя герметичность соединения. Для разрушения сернокислого аммония и отгона аммиака используют 40%-й раствор щёлочи, взятый в таком объёме, который в четыре раза превосходит объём концентрированной серной кислоты, взятой при сжигании пробы (при 10 см^3 кислоты берут 40 см^3 щёлочи).

Отгонную колбу прямо на нагревателе открывают, наклоняют, в левой руке удерживают колбу и пробку холодильника. В колбу по стенке приливают отмеренное количество щёлочи так, чтобы она опустилась вся на дно колбы, и пробку холодильника быстро закрывают. Это вызвано тем, что реакция взаимодействия щёлочи и сульфата аммония начинается и без нагревания, что приводит к потерям аммиака. Горлышко колбы нельзя по всей поверхности заливать щёлочью, так как пробка холодильника выскочит при кипячении.

Закрытую колбу осторожно и тщательно взбалтывают круговыми движениями, при этом в стакан-приёмник проскакивают первоначально пузырьки воздуха. Раствор в колбе сначала становится красного цвета, а затем темнеет, и при нагревании появляется объёмный осадок. Включают нагреватель и холодильник и приступают к отгону аммиака. Через 20 – 25 мин после начала отгона опускают стакан-приёмник так, чтобы раствор аммиака из холодильника стекал по стенке стакана. Кипение в отгонной колбе должно быть равномерным и достаточно интенсивным,

иначе кислота из стакана будет засасываться в холодильник за счёт перепада внутреннего и наружного давления газов. Если засасывание началось, надо усилить нагрев отгонной колбы и вынуть конец трубки холодильника из раствора кислоты, для этого опустить стакан-приёмник.

Отгон считать законченным, когда содержимое отгонной колбы испарится до 1/3 первоначального объёма. Полноту отгона аммиака проверяют универсальным индикатором, лакмусом или реактивом Несслера, для чего берут несколько капель из холодильника на индикаторную бумагу или в пробирку, куда добавлен реактив Несслера. Он даёт с аммиаком жёлтое окрашивание.

Если в процессе отгона жидкость в приёмнике изменит окраску, необходимо добавить точно фиксированное количество 0,1 н. H_2SO_4 (20 $см^3$), так как первоначального объёма кислоты не хватило для связывания аммиака.

По окончании отгона носик холодильника споласкивают дистиллированной водой из промывалки в приёмник.

Содержимое приёмника титруют 0,1 н. раствором едкого кали, перемешивая осторожно стеклянной палочкой, до перехода окраски метилового красного в бесцветную, а по реактиву Гроака – от лиловой в светло-зелёную. Здесь интенсивность окраски зависит от количества индикатора.

Количество аммиака находят по разности между количеством кислоты в приёмнике, первоначально прилитой, и количеством кислоты, которая не связалась с аммиаком и оттитрована впоследствии щёлочью.

Расчёт

$$\text{Содержание общего азота: } N\,[\%] = \frac{(a\,н._к - b\,н._{щ}) \cdot 14 \cdot 100}{H \cdot 1000},$$

где: a – объём H_2SO_4 в приёмнике, $см^3$; $н._к$ – нормальность H_2SO_4, мгэкв, b – объём щёлочи, израсходованный на титрование, $см^3$; $н._{щ}$ – нормальность щёлочи, мг·экв; *14* – атомная масса азота; H – навеска, г; *1000* – коэффициент пересчёта мг в г.

Форма записи

№ образца	Навеска (H), г	кислота		щелочь		масса азота, г	N, %
		a, $см^3$	$н._к$	b, $см^3$	$н._{щ}$		
1	0,5043	25	0,1205	19,6	0,1124	14	1,97

Реактивы

1. Серная кислота концентрированная (d = 1,84)
2. 40%-й раствор щёлочи.
3. Селен металлический порошок.
4. 0,1 н. раствор H_2SO_4, готовится из фиксанала.
5. 0,1 н. раствор NaOH или KOH, готовится из фиксанала.
6. Индикатор Гроака. комбинированный, при pH 5.5 – чёткое изменение фиолетового цвета на зелёный. Приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.

Определение белкового азота

В растительных тканях содержание белков обычно ниже, чем содержание углеводов, тем не менее по значимости белки являются главным компонентом растительных клеток, так же как клеток бактерий и животных.

Молекула белка состоит из одной или нескольких полипептидных цепочек, каждая из которых содержит не менее ста аминокислотных остатков, ковалентно связанных между собой пептидными связями. Белковые молекулы взаимодействуют с водой, с органическими и неорганическими веществами, а также с такими биополимерами, как нуклеиновые кислоты, которые выполняют в растениях множество различных функций: регуляторные, транспортные, защитные. Высокой активностью, специфичностью и лабильностью отличаются ферменты, т.е. белки, которые выполняют функции биологических катализаторов. Запасные белки отличаются большей стабильностью, их энергия в основном реализуется в процессах прорастания семян.

Содержание и свойства белков в различных растительных объектах подчиняются ряду общих закономерностей: так известно, что содержание белка в зерне увеличивается с повышением температуры и снижением относительной влажности воздуха, т.е. в районах юго-востока содержание белка всегда выше, чем в аналогичных видах и сортах растений, выращенных в условиях северо-западных регионов. Содержание белка обычно отрицательно коррелирует с продуктивностью растений за счет явления «ростового разбавления», если дополнительно в почву не вносят азотные удобрения. Такие агротехнические приемы, как орошение, связанное с интенсивным синтезом биомассы, приводят к некоторому снижению белка в зерне.

Увеличение содержания белка связано в основном с применением определенных доз азотных удобрений в сочетании с фосфорными и калийными, а для зернобобовых культур – с внесением молибдена и известкованием почвы. Фосфорные удобрения положительно влияют на синтез белка в вегетативных органах. Влияние агротехнических приемов на синтез белка часто превышает разницу в содержании белка, которая проявляется за счет видовых и сортовых различий.

На долю белкового азота приходится основная часть азота растений. Методы определения содержания белкового азота широко используются для расчета количества белков и оценки качества растительной продукции в пищевой промышленности, зоотехнике для составления рационов, в медицине для разработки лечебных диет, в селекции, агрохимии для оценки влияния удобрений и других агротехнических факторов на качество получаемой продукции.

Принцип метода. Методы определения белкового азота включают выделение белка из общей растительной массы. Для этого белок

переводят в осадок, а небелковые азотистые соединения, хорошо растворимые в водных растворах, отмывают водой или слабым раствором осадителя.

Отмытый и подсушенный белок сжигают в концентрированной серной кислоте, при этом получаются следующие продукты окисления: H_2O, CO_2, SO_4^{2-} из сульфгидрильных групп белка, а NH_2 превращается в NH_4^+, образуя растворимую соль, которая сохраняется в колбе. Полученный азот в виде аммиака отгоняют в аппарате Кьельдаля и результаты пересчитывают на белок.

Осаждение белка из раствора проводят одним из следующих реактивов: уксуснокислым свинцом $(CH_3COO)_2Pb$, медным купоросом $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, натрием сульфосалициловым, трихлоруксусной кислотой, фосфорновольфрамовой кислотой и др.

В зависимости от осадителя различают и методы анализа. *Метод Барнштейна* основан на осаждении белков медным купоросом в щёлочной среде. Этот метод применяется как основной при экспертной оценке. Практика показывает, что по этому методу получаются несколько завышенные результаты, так как осаждаются не только белки, но и азот нуклеиновых кислот, азотистых оснований, алкалоидов. При массовых определениях используется менее трудоёмкий *метод Плешкова*, где осаждение белков проводят трихлоруксусной кислотой (ТХУ).

Определение белкового азота можно проводить в сыром и воздушно-сухом растительном материале. Для анализа семян берут навеску 0,2 – 0,3 г, а для вегетативных органов в воздушно-сухом состоянии – около 0,5 г. При анализе растений в свежем состоянии клубни, корни, листья, стебли предварительно измельчают и берут на аналитических весах 5 – 7 г материала. Навески свежего материала берут на часовом стекле и смывают содержимое в стакан с дистиллированной водой. Одновременно в бюкс берут навеску материала 3 – 5 г для определения влажности.

Определение белкового азота с трихлоруксусной кислотой (ТХУ)

Процесс осаждения белкового азота можно ускорить, используя в качестве осадителя 50%-ю трихлоруксусную кислоту (CCl_3COOH), при этом сильно снижается объём осадка. Метод широко применяется при массовых анализах.

Ход анализа

Навеску измельчённого растительного материала 3 – 5 г свежего или 0,3 – 0,5 г фиксированного материала переносят в стакан ёмкостью 150 см^3, добавляют 25 см^3 дистиллированной воды, помешивая стеклянной палочкой с резиновым наконечником, нагревают до кипения и, не охлаждая раствора, прибавляют 5 см^3 50%-й трихлоруксусной кислоты,

тщательно перемешивают. Растительный материал с высоким содержанием крахмала нагревают на водяной бане при 40–50°С в течение 10 мин.

Осаждённый белок оставляют на 0,5 – 1 ч, затем фильтруют через беззольный рыхлый фильтр методом декантации, промывая осадок в стакане и на фильтре небольшими порциями 2%-й трихлоруксусной кислоты. Общий объём промывного раствора 200 $см^3$. Осадок полностью переносят на фильтр.

Отмытый белок на фильтре прямо с воронкой подсушивают в термостате при температуре 50 – 60°С примерно 1 час. Когда фильтр начнёт отставать от воронки, его осторожно сворачивают в трубочку и опускают на дно колбы Кьельдаля. Приливают, в зависимости от размера навески и величины фильтра, 10 – 20 $см^3$ H_2SO_4 (конц.) цилиндром или автоматической пипеткой. Горло колбы закрывают стеклянной круглой пробкой которая предохраняет кислоту от выкипания. При этом за счёт процесса дегидратации под влиянием концентрированной серной кислоты происходит «обугливание» фильтра и белкового остатка. Чёрная пористая масса в колбе постепенно разжижается при нагревании. Если этого не происходит, в колбу следует добавить ещё 5 – 7 $см^3$ концентрированной серной кислоты.

Первоначально озоление ведут при комнатной температуре до полного разрушения фильтра, слегка подогревая колбу на электроплитке, пока её содержимое не приобретёт однородную густо-масляную консистенцию коричнево-бурого цвета. Для равномерного озоления колбу, залитую, кислотой лучше оставить на ночь.

Колбу помещают на электроплитку или в специальный электронагреватель. Вначале процесс озоления ведут на слабом огне, используя регулировку печи реостатом или подкладывая под колбу асбест. Нельзя допускать, чтобы вспенивающаяся масса поднималась вверх по горлу колбы. Если на горле колбы оказались углистые частицы или возникло небольшое вспенивание, колбу охлаждают и смывают их осторожно каплями серой кислоты из пипетки. В колбу добавляют один из катализаторов после того, как раствор в колбе станет однородным. Озоление следует проводить при равномерном, но не бурном кипении серной кислоты, чтобы избежать потерь азота, периодически осторожно взбалтывая колбу.

Сжигание ведут до тех пор, пока раствор в колбе совершенно не обесцветится. Обычно озоление органического вещества происходит за 3 – 8 ч в зависимости от вида материала, навески и интенсивности нагревания. Содержимое колбы Кьельдаля после окончания сжигания переносят количественно в отгонную колбу аппарата Кьельдаля и проводят отгон аммиака.

Расчёт

$$\textit{Содержание белкового азота: } N\,[\%] = \frac{(a\ н._к - b\ н._щ) \cdot 14 \cdot 100}{H \cdot 1000},$$

где: a – объём кислоты в приёмнике, см^3; $н._к$ – нормальность кислоты, мг-экв, b – объём щёлочи, израсходованный на титрование, см^3; $н._щ$ – нормальность щёлочи, мг·экв; *14* – атомная масса азота; H – навеска, г; *1000* – коэффициент пересчёта мг в г.

Реактивы

1. 50%-й раствор трихлоруксусной кислоты, 2%-й раствор ТХУ.
2. Реактив Гроака, смешанный индикатор, при pH 5,5 – чёткое изменение фиолетового цвета на зелёный.
3. Катализаторы:

а) металлический порошок селена – 0,05 г;

б) сернокислый калий, сернокислая медь и др.

Количественное определение белковых фракций в зерне (по Ермакову–Дурыниной)

Биологическая ценность растительных белков во многом зависит от состава и соотношения белковых фракций, которые извлекают различными растворителями. Суммарный белок разделяют на альбумины, глобулины, проламины, глютелины. Главнейшие таксоны культурных растений характеризуются специфическим соотношением этих фракций. Известно, что биологическое и технологическое качество пшеницы в основном определяется проламинами и глютелинами, а у зернобобовых культур проламины почти отсутствуют. Интерес к анализу белковых фракций в основном определяется тем фактом, что по соотношению фракций можно косвенно оценивать аминокислотный состав данного белка, не переходя к анализу аминокислот.

Установлено, что сумма незаменимых аминокислот выше в альбуминах и глобулинах; проламины пшеницы и особенно кукурузы не содержат крайне важных для человека и животных лизина, метионина, триптофана, что снижает биологическую ценность этой фракции. Все процессы созревания и налива зерна тесным образом связаны с изменением соотношения белковых фракций, обычно снижается в белке доля низкомолекулярных белков альбуминов и глобулинов и увеличивается доля проламинов и глютелинов.

Азот минеральных удобрений, внесенный в виде подкормки, в основном переходит в белок спирторастворимой фракции.

Аминокислотный состав белка под влиянием удобрений и других факторов не меняется, но сумма незаменимых кислот может возрастать и снижаться за счет различного соотношения фракций.

Недостаток незаменимых аминокислот в кормах восполняется за счет их микробного и промышленного синтеза, а также за счет выведения

сортов и линий кукурузы, пшеницы, ячменя со сбалансированным аминокислотным составом.

Влияние агрохимических приемов и почвенно-климатических условий на фракционный и аминокислотный состав растений оценивается методом фракционного анализа белка, предложенного Ермаковым и модифицированного впоследствии многими авторами. Метод позволяет анализировать в основном белки семян.

Экстракция белков из вегетативных органов растений производится при помощи буферных растворов, при этом обеспечивается получение экстрактов в мягких условиях, сохраняется структура белковых молекул. Белки извлекаются различными растворителями, применяемыми в одинаковой последовательности: ледяная вода; 5%-й раствор K_2SO_4; 70°-й раствор этанола; 0,2%-й NaOH. В первую вытяжку переходят водно-растворимые белки – альбумины, а также небольшое количество глобулинов, поскольку водный экстракт содержит растворимые соли, а также небелковые азотистые соединения и свободные аминокислоты. Долю извлекаемых глобулинов можно снизить за счет низкой температуры воды. Полнота извлечения каждой фракции достигается 3–4-кратной обработкой навески соответствующим экстрагентом.

Одновременно в исходном образце муки или зерна определяют содержание общего и белкового азота. При расчете результатов сумма азота фракций или сумма белковых фракций должны составить не менее 90% от общего содержания белка или азота.

Подготовка навески: для выделения белков из семян их тонко размалывают, при необходимости обезжиривают и растирают в фарфоровой ступке. При анализе целых семян дроблению и растирке также подвергаются и отруби; при анализе только эндосперма отруби отбрасываются, пропусканием материала на сите 0,2 мм или берется мука соответствующего выхода.

Навески семян обезжиривают петролейным эфиром или авиабензином после размола на мельнице из расчета 0,5 л эфира на 50 г массы. Материал, уложенный рыхло в пакет из фильтровальной бумаги, заливается эфиром в емкости из темного стекла и с притертой пробкой. Емкость заполняется эфиром на 3/4 объема, периодически осторожно взбалтывается. В течении суток растворитель меняется трижды. Обезжиренные пакеты помещают в широкий кристаллизатор и под тягой растворитель испаряют.

Не обезжиривают семена зерновых культур и некоторых зернобобовых с малым содержанием жира.

Навеску 2,5 $\pm$ 0,001 г берут в фарфоровую ступку и помещают в морозильную камеру холодильника. Если нет холодной комнаты, фарфоровые ступки помещают в поддон с водой и воду замораживают, выдерживают 12 ч в морозильной камере холодильника.

Извлечение белков водой.

Навески заливают небольшими порциями ледяной воды (3, 3 и 4 $см^3$) и растирают после добавления каждой порции воды по песочным часам 3 мин до сметанообразного состояния. Можно добавить стеклянный или кварцевый песок. Навески растертой муки количественно переносят в центрифужную пробирку, используя 30 $см^3$ ледяной воды.

Ступку и пестик обмывают водой, смывая ее в центрифужную пробирку. Все растворы центрифугируют в одном режиме 15 мин. при 5·1000 об/мин, при t = +3–5°С (при более низких температурах замерзает надосадочная жидкость). Надосадочную жидкость сливают в мерную колбу на 200 $см^3$ через воронку с ватным тампоном.

Воду 30 $см^3$ заливают в центрифужную пробирку, вставляют туда стеклянную палочку с резиновым наконечником и извлекают белки на ротаторе в течение 15 мин, затем центрифугируют. Извлечение белка из навески продолжают, добавляя еще дважды по 30 $см^3$ ледяной воды, извлекают на ротаторе и центрифугируют. При всех дальнейших экстракциях палочка остается в пробирке. Все супернатанты сливают вместе в мерную колбу, доводят до метки водой и определяют в фильтрате (раствор I) белок по Лоури или азот по Кьельдалю с последующим пересчетом азота на белок.

Извлечение белков солевым раствором

Осадок в центрифужной пробирке заливают 30 $см^3$ 5%-го раствора сернокислого калия. Извлечение на ротаторе проводят в течение 4 мин с последующим центрифугированием. Извлечение повторяют еще дважды, добавляя каждый раз по 30 $см^3$ солевого раствора, затем осадок в пробирке промывают холодной дистиллированной водой, добавляя 40 $см^3$ воды. Промывку водой проводят в течение 10 мин на ротаторе и затем центрифугируют в предложенном режиме.

Солевые и водный растворы сливают вместе в мерную колбу на 100 $см^3$, где раствором сернокислого калия доводят до метки. Получаем солевой раствор (II). Его используют для количественного определения глобулинов. Для этого определяют непосредственно белок по Лоури или сжигают 50 $см^3$ раствора, определяют азот по Кьельдалю и пересчитывают на белок.

Извлечение белков спиртом

Спирт 70°-й извлекает из навески спирторастворимые белки – проламины. Осадок в центрифужной пробирке заливают 35 $см^3$ этанола, перемешивают стеклянной палочкой. Палочку обмывают небольшой порцией спирта из пипетки и вынимают. Пробирки закрывают маленькими воронками или часовыми стеклами и выдерживают на водяной бане 30 мин при t = 80°С, обеспечивая слабое кипение спирта.

Содержимое пробирок охлаждают до комнатной температуры и центрифугируют при тех же условиях. Извлечение белков повторяют еще

два раза, добавляя 30 и 20 $см^3$ спирта и экстрагируя белок при нагревании. При испарении спирта добавляют в пробирку спирт из пипетки, сохраняя указанный объем. При установке в центрифугу пробирки уравновешивают спиртом. Надосадочную жидкость собирают в мерную колбу на 100 $см^3$. Доводят объем до метки спиртом.

При доведении объема водой возможно появление в колбе мути, так как белковые молекулы сорбируют воду, слипаются и выпадают в осадок. Чтобы раствор при этом оставался прозрачным, в колбу добавляют 2 – 5 $см^3$ 0,2%-го раствора едкого натра. Остаток спирта в центрифужной пробирке после извлечения белков удаляют высушиванием под тягой. В растворе (III) определяют количество спирторастворимых белков по Лоури.

Извлечение белков щелочью

Осадок в центрифужной пробирке обрабатывают 40 $см^3$ 0,2%-го раствора NaOH и растирают стеклянной палочкой. При этом извлекаются глютелины. Извлечение проводят на ротаторе в течение 10 мин, извлечение повторяют еще дважды, добавляя в пробирку по 30 $см^3$ раствора щелочи. Каждый раз центрифугируют в предложенном режиме.

Затем осадок промывают водой (30 $см^3$) и в том же режиме центрифугируют. Супернатант и промывные воды собирают в мерную колбу на 200 $см^3$ для количественного определения щелочерастворимых белков – глютелинов (раствор IV).

Определение небелкового азота

Небелковый азот составляет не более 10 – 12% от общего содержания азота в зерне. Небелковые формы в виде нитратного, аммиачного азота и азота свободных аминокислот переходят в водную вытяжку при анализе фракций. В связи с этим ее можно использовать для анализа небелкового азота.

100 $см^3$ водной вытяжки помещают в коническую колбу на 200 $см^3$, приливают 10 $см^3$ 50%-й трихлоруксусной кислоты для осаждения белков, осадок оставляют на один час, фильтруют через рыхлый фильтр.

50 $см^3$ фильтрата, который содержит смесь небелковых форм азота, помещают в колбу Кьельдаля, упаривают на электронагревателе до 10 $см^3$, приливают 5–7 $см^3$ концентрированной серной кислоты и сжигают на плитке. Азот определяют впоследствии колориметрически по Несслеру или отгоняют по Кьельдалю. Разведение вытяжки учитывается при расчете результатов.

Количественное определение белка фракций

Содержание белка в водной, солевой, спиртовой и щелочной вытяжке можно определить двумя методами:

1) непосредственно, окрашивая белки по Лоури реактивом Фолина. Интенсивность окраски измеряют на фотоколориметре с красным светофильтром или на спектрофотометре при 750 нм;

2) косвенно, определяя содержание азота в каждой белковой фракции. В колбы Кьельдаля берут по 50 $см^3$ соответствующей вытяжки, кроме спиртовой, упаривают на электроплитке содержимое до 10 $см^3$ и добавляют 5 $см^3$ концентрированной серной кислоты. Азот определяют колориметрически или отгонкой на микрокьельдале. При анализе спиртовой вытяжки содержимое мерной колбы количественно переносят в колбу Кьельдаля и сначала спирт отгоняют на водяной бане, затем добавляют 5 – 7 $см^3$ концентрированной серной кислоты и озоляют на электроплитке.

Окрашивание растворов белка по Лоури проводится в трехкратной повторности. 1 $см^3$ исследуемого раствора помещают в пробирку, приливают 5 $см^3$ щелочного раствора медного купороса – *раствора «С».* Раствор в пробирке энергично встряхивают и оставляют при комнатной температуре на 10 мин. В каждую пробирку добавляют по 0,5 $см^3$ реактива Фолина и оставляют стоять 30 мин для развития окраски. При наличии белка желтая окраска раствора постепенно переходит в синюю. Интенсивность окраски измеряют на фотоколориметре с красным светофильтром или на спектрофотометре при 750 нм. Калибровочную кривую строят, используя сывороточный альбумин или препараты белка, близкие по свойствам к анализируемым.

Расчет результатов: $$\%\ белка = \frac{a \cdot V \cdot 100}{н \cdot 1000 \cdot в},$$

где a – мг белка по графику; V – суммарный объем раствора, $см^3$; $в$ – объем раствора для окрашивания, $см^3$; $н$ – навеска вещества в г, 1000 – перевод мг в г.

Построение калибровочной кривой

1. 250 мг чистого белка (сывороточного γ-глобулина, кристаллического альбумина) растворяют в 250 $см^3$ 0,1%-го NaOH. 1 $см^3$ такого раствора содержит 1 мг белка.

2. В мерные колбы на 50 $см^3$ приливают последовательно 5, 10, 15, 20, ... 40 $см^3$ раствора, доводят водой до метки.

3. Для окрашивания из каждой колбы берут 1 $см^3$ раствора, что соответствует 0,1; 0,2, ..., 0,8 мг белка в 1 $см^3$. По данным колориметрирования вычерчивают калибровочную кривую.

Реактивы

1. Раствор «С» получают путем добавления 1 $см^3$ раствора «А» к 50 $см^3$ 2%-го раствора «В».

Щелочной раствор медного купороса: 2 г калия или натрия виннокислого растворяют в 100 $см^3$ воды. 1 г медного купороса растворяют в 100 $см^3$ воды. Перед определением белка растворы смешивают в равных объемах. Получаем раствор «А».

2 г Na_2CO_3 растворяют не в воде, а в 0.1 н растворе NaOH и доводят объем водой до 100 $см^3$. Получаем раствор «В».

2. Реактив Фолина: в круглодонную колбу (объемом 2 дм^3) вносят 100 г вольфрамата натрия ($Na_2WO_4 \cdot 2H_2O$), 25 г молибдата натрия ($Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$) и 700 см^3 дистиллированной воды. К раствору добавляют 50 см^3 85%-й фосфорной кислоты, 100 см^3 концентрированной соляной кислоты (d = 1,19) и кипятят при слабом и равномерном кипении с обратным холодильником в течение 10 ч.

Далее прибавляют 150 г лития сернокислого Li_2SO_4, 50 см^3 воды и несколько (3 – 5) капель брома. Кипятят осторожно, без холодильника под тягой, 15 мин для удаления избытка брома. Затем раствор охлаждают до комнатной температуры, доводят водой объем до 1 дм^3, хорошо перемешивают и фильтруют. Полученный реактив зеленоватого цвета хранят в темной склянке в холодильнике при t ≈ 12°С и перед употреблением разбавляют дистиллированной водой в два раза.

Хранить реактив можно длительное время. При «старении» реактива Фолина интенсивность зеленоватой окраски увеличивается. Его можно регенерировать, добавив несколько капель брома. Избыток брома удаляют кипячением в течение 10 – 20 мин, а раствор доливают водой до исходного объема.

Концентрация кислоты в реактиве Фолина должна быть 1 мл·экв. Для определения концентрации кислоты берут 2 см^3 реактива, разводят в 10 раз дистиллированной водой и титруют 0,1 н. раствором щелочи по фенелфталеину. При концентрации кислоты выше указанной в раствор Фолина добавляют воду.

Примечание. Интенсивность окраски белка по Лоури устойчиво сохраняется при наличии в растворе ряда веществ в концентрации не превышающей указанную: этиловый спирт, эфир – 5%-й, ацетон – 0,5%-й, вольфрамат, сульфат, нитрит натрия – 1%-ые, сульфат цинка, сульфат аммония – 0,1%-ые, мочевина и нейтрализованная трихлоруксусная кислота – 0,5%-ые. Фосфатные буферы в концентрации выше 0,1 М вызывают появление осадка. Не рекомендуется определение данным методом растительных объектов с высоким содержанием фенолов и флавоноидов, т.к. они образуют аналогичную окраску с реактивом. Для удаления фенольных соединений необходима обработка материала охлажденным ацетоном.

Получение препаратов белков из фракций

Фракционный анализ белков может быть использован не только для количественного учета их, но и для определения аминокислотного состава каждой фракции. Для этого необходимо белки из растворов осадить, выделить и очистить. Осаждение белков проводится в кислой среде при нагревании; для выделения используют теплые щелочные растворы, в которых большинство белков хорошо растворяется. Очистку белков проводят последовательно ацетоном, спиртом, эфиром, высушивают и используют для последующих определений на содержание аминокислот.

Ход анализа

Для получения препарата белка из соответствующих фракций вытяжки водную, солевую или щелочную переносят в стаканы емкостью 700 – 800 см^3 и подкисляют 10%-м раствором уксусной кислоты до pH 4,4 – 4,5. Реакцию экстракта проверяют индикаторной бумагой. При избытке уксусной кислоты в растворе добавляют 10%-ю щелочь NaOH.

Стаканы на водяной бане нагревают до 70°С и выдерживают до полного осаждения белков. Белки отделяют центрифугированием. Осадок белка в центрифужных пробирках промывают 1%-м раствором уксусной кислоты.

Для лучшей очистки полученный белок переосаждают из щелочного раствора, так промытый осадок в центрифужной пробирке заливают на 1/2 объема 0,2 н. NaOH (t = 40 – 50°С) и растворяют белок, перемешивая стеклянной палочкой с оплавленным концом. Содержимое пробирки количественно переносят в химический стакан, ополаскивая пробирку теплым раствором щелочи. Стакан с раствором нагревают на водяной бане до t = 50°С и выдерживают до полного растворения белка.

Нерастворимый осадок, представленный в основном клетчаткой, отделяют от раствора центрифугированием. Проводят переосаждение белков, для этого в раствор белка вливают 50%-й раствор трихлоруксусной кислоты, в таком количестве, чтобы ее конечная концентрация в растворе составила 5%.

Осажденные белки отделяют на центрифуге и многократно промывают, сначала 5 – 6 раз ацетоном, затем 1 – 2 раза горячим этиловым спиртом и подсушивают, обрабатывая осадок белков 2 – 3 раза эфиром.

Промывные жидкости отделяют центрифугированием в следующем режиме 4 – 5 тыс. об., 15 мин, t = +3–4°С, при открытой крышке центрифуги.

Полученные препараты белков – порошки белого или светло-серого цвета. Их досушивают сначала под тягой, а затем в эксикаторе и используют для проведения анализов, в том числе для количественного и качественного определения аминокислот.

♦ Препараты должны содержать 14 – 18% азота, меньшее содержание против указанного свидетельствует о недостаточно надежной очистке.

Ускоренный метод определения белка в вегетативных органах

Ход анализа

При определении белка в вегетативных органах навеску свежего растительного материала 1 г растирают в фарфоровой ступке, добавляя 5 – 7 $см^3$ кипящей дистиллированной воды. Для лучшего измельчения материала добавляют немного кварцевого песка или поступают так: навеску помещают в сухую ступку, заливают небольшим количеством жидкого азота, хрупкие ткани растирают в порошок, а затем добавляют воду.

Гомогенат количественно переносят в центрифужные пробирки, доводя объем до 10 – 12 $см^3$. Для осаждения белков добавляют 8%-й ТХУ в таком же объеме, перемешивают и центрифугируют. Осадок в пробирке дважды промывают 2,5%-м раствором ТХУ, используя стеклянную

палочку, и снова центрифугируют, надосадочную жидкость сливают по возможности полно.

Осадок белка в пробирке растворяют в щелочи, для этого приливают 5 $см^3$ 1 н NaOH, растирают стеклянной палочкой и разбавляют раствор водой до 0,1 н. концентрации по щелочи. Количество воды можно рассчитать по контрольной пробирке без осадка. Далее раствор фильтруют через бумажный или стеклянный фильтр для отделения клетчатки, песка и других примесей.

Объем фильтрата в мерных пробирках доводят до определенного объема 0,1 н. раствором NaOH. Белок определяют в фильтрате по Лоури. При высоком содержании белка в навеске готовят разведение, используя для этого 0,1 н. раствор NaOH.

При анализе тканей и препаратов, содержащих хлорофилл, необходимо обесцветить осадок белка, так как его производные, образующиеся в щелочной среде, мешают колориметрированию. Для этого в пробирку к осадку промытого белка добавляют 4 – 5 $см^3$ 85%-го ацетона или смеси ацетон–спирт в соотношении 2:1, перемешивая стеклянной палочкой. Смывают осадок с палочки небольшим объемом того же раствора.

Для экстракции пигментов оставляют пробирки на 15 – 20 мин. Затем содержимое пробирки центрифугируют, при этом пигменты переходят в раствор, а белковый осадок обесцвечивается. Окрашенный растворитель отбрасывают, сливая по возможности полно. Остатки растворителя можно упаривать под тягой, небольшие количества спирта и ацетона не мешают определению.

Осадок белка растворяют 1 н. раствором NaOH. Если он плотный и плохо растворяется, увеличивают прилитый объем щелочи и слегка нагревают пробирки в кипящей водяной бане 10 – 15 мин. Перед фильтрованием доводят концентрацию щелочи до 0,1 н и фильтруют через бумажный или стеклянный фильтр в мерную колбу или пробирку. Объем фильтрата доводят до метки 0,1 н. щелочью.

Количественное определение и экстракция растворимых белков из вегетативных органов

Оценка функциональной активности растений в значительной степени определяется количественным и качественным составом белков в различных органах и частях клетки, а также на разных фазах органогенеза. Методы фракционирования белков из вегетативных органов имеют свои особенности и отличаются от методов, применяемых для выделения белков из зерна. При анализе вегетативных органов следует учитывать, что они содержат в основном лабильные,

высокоактивные белки, большое количество ферментов и интенсивно окрашенных пигментов.

При анализе белков из вегетативных органов растений происходит быстрое окисление тиразиновых остатков полифенолоксидазами, попадающими в экстракт при измельчении тканей. Внешнее проявление ферментативного окисления полифенолов фиксируется по побурению экстракта. Побурение в экстракте устраняют введением в экстрагирующий раствор «защитных добавок» с восстановительными свойствами – аскорбиновую кислоту, ЭДТА и др.

Экстракцию белков проводят при помощи системы буферных растворов, которые не нарушают структуры белковых молекул. В основу экстрагентов положен трис-глициновый буферный раствор pH 8,3.

Ход анализа

Навеску свежего растительного материала массой 2 – 3 г растирают в фарфоровой ступке на холоду при t = 2–4°С с небольшим количеством промытого кварцевого песка, добавляя туда постепенно трис-буфер для равномерного растирания, первоначально 3 – 4 $см^3$, а затем добавляя по 1 $см^3$ (время растирания не должно превышать 10 мин).

Гомогенную массу количественно переносят в центрифужную пробирку, обмывают ступку и пестик раствором буфера. Буфер берут в количестве 20 – 25 $см^3$ на одну экстракцию, гомогенат помещают в холодильник на 1 ч, для экстракции легко растворимых белков, периодически перемешивая содержимое стеклянной палочкой. Затем гомогенат центрифугируют при 15 тыс. оборотов в мин, при t = 3–4°С в течение 15 мин. Надосадочную жидкость сливают в мерные колбы на 100 $см^3$.

Для качественного анализа белков достаточно однократного извлечения их на холоде в течение указанного времени.

Для количественного определения белков экстракцию необходимо повторить еще не менее трех раз, используя то же соотношение навески и раствора и тот же режим центрифугирования. Экстракция считается законченной, если в последнем растворе белок по Лоури не обнаруживается.

Надосадочную жидкость последующих экстракций сливают в ту же мерную колбу, буфером доводят объем до метки. Раствор используют для количественного определения белка по Лоури, а также для электрофореза в полиакриламидном геле.

Для экстракции труднорастворимых белков осадок в центрифужной пробирке заливают буферным раствором С из расчета 6 $см^3$ на 1 г навески материала, перемешивают и извлекают на холоду (2–4°С) в течение часа. Суспензию центрифугируют при охлаждении 3–4°С, в течение 15 мин при 15 тыс. об./мин.

Экстракцию повторяют еще 2 – 3 раза до полного извлечения белков. Надосадочную жидкость сливают вместе в мерную колбу на 100 см^3, доводят соответствующим буфером до метки и используют для определения белка по Лоури или для электрофореза в полиакриламидном геле.

Расчет:

$$\%\ белка = \frac{a \cdot V \cdot 100}{d \cdot н},$$

где a – мг белка по графику; V – общий объем раствора, см^3; $н$ – навеска сырого материала, г; d – см^3 раствора белка, взятого для окрашивания.

Приготовление растворов для экстракции белков из вегетативных органов

Раствор А применяется для извлечения легкорастворимых белков из растительных объектов с малым содержанием фенолов, не содержит антиокислительных добавок (pH 8,3). 5,78 г гликоля; 1,2 г трис-оксиметиламинометана растворяют в дистиллированной воде и объем доводят до 1 дм^3.

Раствор Б применяется для извлечения легкорастворимых белков из растений, содержит антиокислительные добавки, pH 8,3. 5 г аскорбиновой кислоты; 1,2 г едкого натра; 1 г трилона Б (двунатриевая соль этилендиамин тетрауксусной кислоты); 0,5 г диэтилдитиокарбомата натрия растворяют в растворе А и доводят общий объем до 1 дм^3.

Раствор С применяется для экстракции труднорастворимых белков. 10 см^3 неионного детергента Тритон Х - 100 растворяют в растворе А и доводят объем до 1 дм^3.

Песок очищенный прокаленный. Белый речной песок просеивают через сито 4 – 5 мм. Промывают в десятикратном к весу объеме водопроводной воды 5 – 6 раз, воду сливают. Песок заливают смесью концентрированной соляной кислоты и воды в соотношении 1:1, неоднократно перемешивают в кристаллизаторе или эксикаторе, закрывают крышкой, оставляют на сутки. Если надосадочная жидкость приобретает желтую окраску, песок после двух–трехкратной промывки водой снова заливают смесью кислоты и воды. Песок отмывают сначала водопроводной водой до исчезновения кислой реакции по индикатору, а затем дистиллированной водой, просушивают и просеивают при t = 400–500°С для удаления органических веществ. Хранят в закрытом сосуде с притертой пробкой долго, несколько лет.

Раствор растворимого крахмала. 1 г растворимого крахмала растирают в 20 см^3 холодной дистиллированной воды. Эту смесь вливают при помешивании в химический стакан, содержащий 80 см^3 горячей дистиллированной воды, кипятят 3 мин., горячий раствор фильтруют через рыхлый фильтр. Раствор хранится в холодильнике не более трех суток (1%-й раствор растворимого крахмала).

Определение амидного азота

При определении амидов необходимо обратить внимание на фиксацию растительного материала, так как эти соединения легко разлагаются под влиянием повышенной температуры и под влиянием органических кислот растений. Растения с большим содержанием органических кислот необходимо фиксировать в спирте, это в основном

плоды, ягоды, фрукты. При фиксации листьев допустима обработка текучим паром.

Принцип метода. При нагревании с кислотами амиды отщепляют свою амидную группу в виде аммиака, который затем учитывается путем отгона при $t \approx 40°C$ в титрованную кислоту:

$$CONH_2\text{-}CH_2\text{-}CH\text{-}COOH + H^+ OH^- = COOH\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}COOH + NH_3\uparrow$$

Количество амидов вычисляют, умножая найденное количество аммиака на 9,42 – для аспарагина и на 10,42 – для глютамина. Расчет на амиды носят условный характер, так как в растениях присутствуют оба амида сразу. Для высших растений пересчет обычно делается на аспарагин, а для грибов пересчет можно делать на мочевину.

Ход анализа

Навеску воздушно-сухого материала 2 – 10 г помещают в мерную колбу на 100 – 200 $см^3$ и извлекают теплой водой $t \approx 40°C$ в течение 30 мин. Объем воды составляет 2/3 объема колбы.

Раствор охлаждают, осаждают белки, добавляя по каплям 10%-й раствор уксуснокислого свинца до полного осаждения белков. Раствор после добавления каждой капли тщательно перемешивают. Избыток свинца недопустим.

Объем раствора доводят водой до метки, перемешивают, оставляют примерно на 4 часа для созревания осадка или на ночь, затем фильтруют через рыхлый складчатый фильтр.

100 $см^3$ фильтрата помещают в колбу на 300 $см^3$ с обратным холодильником, в колбу доливают серной кислоты столько, чтобы конечная концентрация была 5%, закрывают холодильник и кипятят на водяной бане 3 часа. Раствор охлаждают и осторожно нейтрализуют, добавляя малые порции сухой соды до слабокислой реакции. Нейтрализованный раствор переносят в колбу для отгона, прибавляют аммиак в кислоту известной нормальности при $t = 40°C$.

В качестве контроля используют фильтрат без предварительного гидролиза 5%-й кислотой, определение аммиака проводится так же.

Примечание. Определение амидного азота может быть таким же методом после осаждения белков гидратом окиси меди, т.е. использовать фильтрат после осаждения белков по Барнштейну.

Раздельное определение аспарагина и глютамина (по Кретовичу)

Ход анализа

Белки в водной вытяжке осаждаются с помощью 4%-го раствора танина. В зависимости от растительного материала на 100 $см^3$ вытяжки расходуется 3 – 6 $см^3$ раствора танина, раствор тщательно перемешивают и оставляют на ночь на холоду для осаждения белков.

Раствор фильтруют и используют для раздельного определения свободного аммиака и азота амидов.

Разделение аспарагина основано на более легкой гидролизуемости глютамина по сравнению с аспарагином, который гидролизуется только в кислой среде.

100 $см^3$ фильтрата помещают в колбу на 300 мл с обратным холодильником. Прибавляют метилрот и фосфатный буфер с pH 6,46. Буфер приливают до появления желтой окраски по индикатору.

Колбу с обратным холодильником кипятят на водяной бане в течение 1 ч. После охлаждения гидролизата в нем определяют количество аммиака. Этот аммиачный азот состоит из аммиака свободного и амидного азота глютамина, примесь азота аспарагина составляет приблизительно 2,5%. Аммиачный азот определяем отгоном, получаем $\sum_1$.

Для определения аспарагина берут 50 $см^3$ фильтрата и добавляют 30%-й раствор серной кислоты из расчета, чтобы конечная концентрация раствора составила 5% серной кислоты.

Колбу с обратным холодильником помещают в баню и при регулярном помешивании кипятят 3 часа. По окончании гидролиза охлаждают и нейтрализуют содержимое колбы сухой содой до слабокислой реакции. Методом отгона определяют содержание аммиака. Получаем сумму аммиачного азота, которую представляем: аммиак свободный + аммиак аспарагина + аммиак глютамина, т.е. $\sum_2$.

Определение свободного аммиака проводят следующим образом: 50 $см^3$ фильтрата помещают в колбу для отгона и добавляют раствор буры в щелочи. Отгон проводят в вакууме, при 40°С (с. 374 – 376), получаем $\sum_3$.

Более надежные результаты дает использование при гидролизе глютамина фосфатно-боратного буфера, а при отгоне аммиака рекомендуем пользоваться не магнезией, а щелочным раствором буры.

Количество азота выражают в мг на сухую навеску при всех трех определениях, а затем *рассчитывают*:

$$\text{аспарагин } N\,мг = (\sum_2 - \sum_1)\,мг \times 100/47,$$

$$\text{глютамин } N\,мг = \sum_2 (\sum_2 - \sum_3) - N\,мг \text{ аспарагина}$$

Реактивы

1. Фосфатно-боратный буфер: 750 $см^3$ 0,1 М KH_2PO_4 (13,62 г на 1 $дм^3$) и 250 $см^3$ 0,05 М буры (19,1 г на 1 $дм^3$).
2. Смесь буры и NaOH: 5 г буры растворяют в 100 $см^3$ 0,5 н. NaOH, используют для отгона аммиака.

Определение аммиака. Аммиак в растениях в «свободном» состоянии находится в виде солей органических кислот: щавелевой, яблочной и т.п. Вытесняется из этих соединений слабыми щелочами и отгонку его проводят в вакууме на водяной бане при t = 35–40°С. Для количествен-

ного определения аммиака используют фильтрат после осаждения белков или непосредственно водную вытяжку.

Принцип метода. Из раствора аммиак вытесняют слаборастворимой щелочью при низкой температуре, аммиак улавливают слабой кислотой, несвязанный избыток которой оттитровывают щелочью. Для отгонки используют специальный прибор или колбу Вюрца с различными модификациями.

Ход анализа

В круглодонную колбу с широким горлом помещаем 100 см^3 вытяжки, если раствор кислый, его нейтрализуют щелочью, можно 10%-м раствором NaOH. Колбу закрывают пробкой, в которую вставлена воронка.

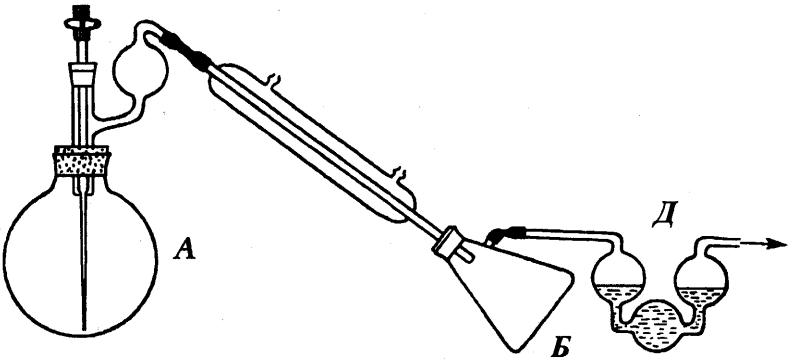


Рис. 25. Прибор для отгонки аммиака в вакууме:
А – отгонная колба, Б – приемник, Д – дефлегматор

В приемную колбу наливают 20 см^3 20%-й борной кислоты, присоединяют ее к холодильнику, соединяют эту колбу через дефлегматор Д с водоструйным насосом.

В отгонную колбу через воронку вливают хорошо прокипяченное и охлажденное известковое или магнезиальное молоко до яснощелочной реакции по лакмусовой бумаге. Обычно используют от 2 до 10 г MgO. Воронку закрывают зажимом. Содержимое колбы перемешивают от руки.

Подключают водоструйный насос и нагревают колбу на водяной бане t = 38 – 40°С. При наличии вакуума отгон аммиака заканчивается за 30 – 40 мин. По окончании отгонки зажимают зажимом отводную трубку приемной колбы.

Осторожно открывают кран капельной воронки, выравнивают давление в обеих колбах, вынимают пробки из отгонной, а затем и из приемной колбы. Носик холодильника ополаскивают дистиллированной водой, промывные воды сбрасывают в приемную колбу.

Содержимое приемной колбы по индикатору тимолфталеину оттитровывают 0,1 н. раствором H_2SO_4. Содержание аммиака рассчитывают по формуле (см. с. 384).

Нагревание колбы на бане начинают после того, как в системе создается вакуум. В случае сильного пенообразования в отгонной колбе можно добавить 1 – 2 г чистого парафина. Если нет возможности собрать указанный прибор, то можно для отгона использовать колбу Вюрца. В пробку этой колбы должны быть вмонтированы воронка с длинным носиком и капилляр с зажимами. Отводную трубку этой колбы соединяют с другой, меньшей по объему колбой Вюрца, она служит приемником. Отводную трубку второй колбы Вюрца резиновым шлангом через предохранительную склянку соединяют с водоструйным насосом. Вторую колбу Вюрца помещают в штатив с держателем, укладывают в него большую стеклянную воронку, а затем колбу Вюрца. Колбу, таким образом, в процессе отгонки охлаждают проточной водопроводной водой.

Определение аминного азота фотометрическим методом

Принцип метода: аминокислоты переводят в растворимые медные соли. Содержание меди в растворе определяют по ферроцианиду меди $[CuFe(CN)_6]$, который при малых концентрациях дает слабо-розовую окраску. Интенсивность окраски измеряется на колориметре.

Ход анализа

Навеска воздушно-сухой массы ±0,2–0,3 г вегетативных органов или 2 г сырой биомассы растирают в фарфоровой ступке, добавляя 3 – 5 $см^3$ дистиллированной воды.

Количественно переносят через стеклянную воронку в мерную колбу на 25 $см^3$, объем раствора должен быть ~ 15 $см^3$. Содержимое нагревают на водяной бане 30 мин при t = 45–50°С, колбы при экстракции регулярно перемешивают.

Охлаждают экстракт, осаждают белки, для этого по каплям добавляют ~ 2 $см^3$ 5%-го раствора $ZnSO_4$. Для установления нейтральной реакции раствора и сохранения ИЭТ добавляют еще 0,5 $см^3$ 5%-го раствора NaOH, перемешивают, а полноту осаждения белков проверяют добавлением одной капли 1%-го раствора NaOH, при внесении которой экстракт не должен давать помутнения. Содержимое колбы доводят до метки водой и перемешивают.

Экстракты после осаждения белков фильтруют через стеклянные тигли или центрифугируют для отделения белков.

Берут 5 $см^3$ прозрачного фильтрата (1) в коническую колбу на 50 $см^3$, добавляют 5 $см^3$ смеси меди, реактив А, взбалтывают содержимое 10 мин. Одновременно готовят контрольную пробу, для этого вместо экстракта берут 5 $см^3$ воды. Содержимое опытной и контрольной колб фильтруют – фильтрат (2).

Берут 5 см^3 фильтрата (2) в мерную пробирку на 10 см^3, добавляют 0,1 см^3 10%-й HCl, 1 см^3 феррорцианида, энергично перемешивают, доводят до метки, снова перемешивают. Интенсивность окраски измеряют на колориметре. Для сравнения используют контрольный раствор, который окрашивают так же.

Построение калибровочной кривой. Исходный раствор медной соли (стандарт) разбавляют водой в 10 раз – получаем рабочий раствор. Готовят серию растворов для окрашивания, для этого в 11 пробирок вносят поочередно от 0,1 до 1 см^3 рабочего раствора медной соли с интервалом 0,1 или 0,2 см^3. В каждой пробирке водой доводим объем до 5 см^3. Оптические плотности полученных растворов соответствуют 0,001; 0,002; 0,01 мг аммиачного азота. Окрашивание этих растворов проводится так же, как и опытных растворов. Используют синий светофильтр. При вычислении результатов анализа сначала величину оптической плотности контрольного раствора вычитают из величины плотности опытного раствора.

Содержание аминного азота в мг на 100 г в опытном образце *(X)* рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{a \cdot V_1 \cdot 100}{V_2 \cdot H}$$

где a – мг аминного азота по графику, V_1 – общий объем экстракта при гидролизе белка (см^3); V_2 – объем раствора, взятого для окрашивания (см^3); H – навеска материала, г.

Реактивы

1. 0,16 М раствор $CuCl_2$: 27,3 г соли растворяют в воде, доводят объем до 1 дм^3.
2. Раствор натрия фосфорнокислого: 64,5 г Na_2HPO_4 $12H_2O$ растворяют в 0,5 дм^3 воды без CO_2, добавляют 7,2 г NaOH, растворяют, доводят объем до 1 дм^3.
3. Боратный буфер – pH 8,9.
4. Взвесь фосфорнокислой меди (реактив А), готовят непосредственно в день определения из трех растворов (приготовление которых описано в п.п. 1 – 3), смешивая их в такой последовательности: растворы п. 1 и п. 2 смешивают в соотношении 1:2, а затем добавляют 2 объема буфера боратного (п. 3).
5. Феррорцианидный реактив готовят смешиванием в день определения двух растворов: 1%-го раствора аммония азотнокислого и 1%-го раствора $[K_4Fe(CN)_6]$.
6. Стандартный раствор медной соли для калибровочной кривой: 6,092 г $CuCl_2$ H_2O растворяют в 1 дм^3 воды. 1 см^3 раствора содержит 6,092 мг меди и соответствует 1 мг аминного азота.

Определение пуриновых оснований и нуклеиновых кислот по азоту (по Корчагину)

Метод пригоден для анализа растительных эмбриональных тканей, бактериальной массы, нуклеопротеидов. Вещества, содержащие пуриновые основания, подвергаются гидролизу, свободные пурины осаждаются закисью меди. После сжигания осадка закиси меди определяют азот по микрокьельдалю.

Навеску растительного материала от 20 до 100 мг гидролизуют в течение 1 ч, в смеси кислот 10 н. муравьиной и 1 н. HCl в равных соотношениях, объем смеси 4 $см^3$. Гидролиз ведут с обратным холодильником при температуре 105°С.

Горячий гидролизат осторожно нейтрализуют 40%-м раствором NaOH до pH 4,5 – 4,7 для максимального осаждения белков. Холодный раствор фильтруют в мерную колбочку на 15 – 25 $см^3$.

Осадок на фильтре промывают 1,5 $см^3$ цитратного буфера с pH 5,0, затем водой доводят объем колбы до 2/3.

В фильтрат в мерной колбочке по каплям добавляют 20 – 25%-й водный раствор танина («х.ч.» без азота). Для полного осаждения белков и полипептидов необходимо внести 6–12 капель, тщательно их перемешивая, затем довести до метки водой.

После добавления танина раствор фильтруют через сухой фильтр или центрифугируют для отделения белков.

Берут 5 $см^3$ прозрачного фильтрата, добавляют 3 $см^3$ цитратного буфера pH 5 Буфером доводят смесь точно до pH 5, так как пурины количественно осаждаются из раствора только при этом значении pH.

После добавления буфера пурин из раствора осаждаем, добавляя для этого 0,3 – 0,8 $см^3$ 10%-й суспензии закиси меди.

Осадок пуринов отделяют от раствора центрифугированием, затем промывают его 2 – 3 раза водой, Количественно переносят осадок в колбу Къельдаля, сжигают, добавляя 3 – 5 $см^3$ концентрированной серной кислоты и проводят микроопределение азота колориметрически или микроотгонкой.

Если необходимо вычислить содержание нуклеиновых кислот по азоту пуриновых оснований, то величину азота пуринов умножают на 9,12 (эта величина 100: на среднее содержание азота пуринов в нуклеиновых кислотах).

Реактивы

1. 10 н. муравьиная кислота.
2. 1 н. соляная кислота.
3. 40%-й раствор NaOH.
4. Цитратный буфер – pH 5.
5. 10%-я водная суспензия закиси меди: 1.8 г глюкозы взаимодействуют с 0,5 $дм^3$ фелинговой жидкости. выпавший темно-красный осадок закиси меди позволяет получить 25 $см^3$ суспензии. Во второй раз вместо цитратного буфера лучше внести буферную смесь следующего состава: 1 часть 20%-й ТХУ. 2 части 1 М раствора натрия лимоннокислого и 1 часть 10%-го раствора хлористого натрия. Раствор доводится до pH 5 едким натром или лимонной кислотой.

Раздельное определение аминокислот и полипептидов методом титрования

Аминокислоты, полипептиды и белки в основном являются амфотерными соединениями, благодаря одновременному присутствию амино- и карбоксильных групп.

Титрование таких соединений щелочью в водно-спиртовой среде подавляет диссоциацию аминных группировок, вследствие чего нейтральные в водных растворах эти вещества приобретают кислые свойства за счет присутствия в спиртовом растворе карбоксильных групп. Карбоксильные группы могут быть оттитрованы щелочью.

Между аминокислотами и полипептидами есть характерное отличие при титровании в водно-спиртовых растворах: можно оттитровать полипептиды в 40°- или 50°-м спирте, в то же время аминокислоты титруются в 90°- и 97°-м спирте. Плотность спирта зависит от применяемого индикатора.

Данный метод позволяет определить примерно 99% аминокислот от их количества в гидролизате.

Метод пригоден для краткосрочных опытов по изучению кинетики ферментативных процессов, протекающих при действии протеиназ и пептидаз.

Переход на микрометодику позволяет снизить потребность в спирте.

Принцип метода

Определение проводят в водном растворе гидролизата белка. При титровании в 96°-м спирте получают сумму полипептидов и аминокислот, при титровании в 50°-м спирте находят содержание полипептидов. Количество аминокислот определяют по разности первого и второго титрования. Таким образом, можно дифференцировать, до известной степени, азот аминокислот и азот полипептидов. Следует учитывать, что в 50°-м спирте при титровании аминокислоты связывают только 28%-й щелочи от общего количества, необходимого для их полной нейтрализации, поэтому при расчете содержания вводится коэффициент 0,28. Параллельно ведут титрование контрольной пробы – вода, спирт, индикатор. При титровании рекомендуется применять спиртовые растворы щелочи, а не водные, как делают обычно.

Если титрование проводят по тимолфталеину, то пептиды определяют в 40°-м спирте, а аминокислоты в 90°-м. Если при определении используют фенолфталеин, то необходимо взять соответственно 50°- и 96°-й этиловый спирт.

Ход анализа

В коническую колбу на 100 $см^3$ берут 5 $см^3$ водного раствора гидролизата белка. Прибавляют 50 $см^3$ 90°-го этанола и 3 – 4 капли тимолфталеина.

Раствор титруют 0,1 н. раствором спиртовой щелочи КОН до появления синего окрашивания. Параллельно ведут титрование контрольной пробы – 5 $см^3$ воды, спирт, индикатор до такой же окраски. Разность в объемах щелочи опытной и контрольной колбы соответствует количеству щелочи, пошедшей на нейтрализацию аминокислот (28%) и поли-пептидов.

Если хотят *раздельно* определить в продуктах гидролиза азот аминокислот и пептидов, то пептиды титруют в менее плотном растворе этанола таким образом: 5 $см^3$ того же гидролизата белка переносят в колбу, добавляют 50 $см^3$ 40°-го спирта и несколько капель тимолфталеина.

Титруют тем же раствором щелочи, параллельно титруют содержимое контрольной колбы

Расчет раздельного содержания азота аминокислот и полипептидов проводят следующим образом: на титрование опытного образца в 90°-м спирте пошло 16,5 $см^3$ щелочи, а в 50°-м спирте – 9,3 $см^3$. Объем щелочи, пошедшей на титрование аминокислот обозначим через *а*, а полипептидов – через *в*, тогда получим: $9{,}3\ см^3 = в + 0{,}28а$

$16{,}5\ см^3 = а + в$, отсюда $9{,}3\ см^3 = (16{,}5\ см^3 - а) + 0{,}28а$

Находят количество щелочи для аминокислот $а = 10\ см^3$, $в = 6{,}5\ см^3$. Затем расчет ведут на азот аминокислот и азот полипептидов с учетом навески и разведения.

Для экономии спирта можно использовать определение по микрометоду теми же реактивами и в той последовательности:

Берут микропипеткой 0,5 $см^3$ водного гидролизата белка, добавляют 5 $см^3$ 90°-го спирта, 2 капли раствора тимолфталеина в пробирку, хорошо встряхивают.

Титруют раствор в пробирке до ясноголубой окраски 0,01 н. КОН в 90°-м спирте из микробюретки.

В качестве эталона для сравнения окраски можно использовать 0,04 М раствор хлористой меди в избытке аммиака. Емкость с аммиаком должна быть плотно закрыта.

Реактивы

Этанол (спирт этиловый. «х.ч.») 40° и 90°-й по спиртометру; тимолфталеин 0,5%-й спиртовой раствор и 0,1%-й для микрометода.

Определение небелкового азота в водной вытяжке

Определение небелкового азота можно проводить двумя путями: расчётным и аналитическим. Расчётным методом небелковый азот находится по разности в содержании общего и белкового азота, выраженных в процентах. При аналитических работах возможны следующие варианты:

1. Прямое определение небелкового азота в водной вытяжке, которое обеспечивает наибольшую точность результатов. Этот метод использу-

ется в том случае, когда необходимо непосредственно определить содержание форм небелкового азота – аммиачную, нитратную и т.д.

2. Определение его в фильтрационных водах после осаждения белка из навески медным купоросом по Барнштейну; хлорной кислотой по Плешкову; уксуснокислым свинцом по Бертрану.

Ход анализа

На аналитических весах с помощью пробирки взять точную навеску воздушно-сухого материала в пределах 1 ± 0,0001 г и поместить в химический стакан объёмом 150 – 200 $см^3$. Если определение проводится из свежего растительного материала, берётся навеска свежего растительного материала 10 г с одновременным определением влажности. Прилить цилиндром 125 $см^3$ дистиллированной воды, опустить в стакан палочку с резиновым наконечником.

Нагреть водяную баню до 90°С, поставить в неё стаканы с испытуемым материалом и контрольный стакан с чистой водой (125 $см^3$) и термометром.

Экстрагирование азотистых веществ проводить в течение 30 мин при температуре в стаканах 80°С, часто помешивая палочкой. Охладить растворы до комнатной температуры в бане с холодной водой (сменить воду 2 – 3 раза).

Для осаждения белков прилить к раствору градуированной пипеткой 0,5 $см^3$ 4%-го раствора уксуснокислого свинца, хорошо размешать и дать отстояться образовавшемуся осадку несколько минут. Прибавлять реактив по 2 – 3 капли, каждый раз энергично взбалтывая палочкой, до полного осаждения белков. Если осаждение идёт медленно, оставить раствор на 1 ч.

Отфильтровать раствор через воронку диаметром 8 – 10 см со складчатым бумажным фильтром в мерную колбу на 200 $см^3$, промыть стакан и осадок на фильтре 4–5 раз малыми порциями дистиллированной воды, довести до метки, перемешать.

50 $см^3$ раствора взять пипеткой и перенести в колбу Кьельдаля. Осторожно нагреть до кипения, упарить объём до 5 – 7 $см^3$.

Остаток раствора охладить, прилить 7 $см^3$ конц. H_2SO_4, продолжить озоление раствора до бесцветного. В качестве катализатора добавить на кончике пера металлический селен или др.

После окончания озоления раствор количественно перенести в мерную колбу на 200 $см^3$ и провести определение аммиачного азота по Несслеру или использовать отгон по микрокьельдалю.

Отгон аммиака в аппарате микрокьельдаль

Скорость определения азота значительно увеличивается при наличии в лаборатории аппарата микрокьельдаль (рис. 26). Аппарат имеет стационарный парообразователь, нагрев от электросети.

Определяемый раствор заливается через воронку во внутреннюю дистилляционную колбу, туда же добавляется щелочь (концентрированный раствор NaOH или KOH). Интенсивность отгона аммиака регулируется подачей пара. Выделяющийся аммиак, пройдя по системе охлаждения, связывается в приемнике борной кислотой, при этом образуется щелочь NH_4OH, которая впоследствии оттитровывается серной кислотой точно известной нормальности.

Включение прибора

1. Заполнить водой парообразователь через горловину Г (рис. 26), ориентируясь по уровню водоналивной трубки Т, закрыть горловину пробкой.

2. Включить прибор в электросеть на 220 В, регулятор нагрева поставить в положение 3. Нагревать парообразователь 20 – 30 мин.

3. Клапан подачи пара и клапан сброса отработанной жидкости 5 должны быть открыты!

4. Включить водяное охлаждение от водопроводной сети на среднюю скорость вытекания воды B_2.

5. При появлении пара в отгонной емкости закрыть клапан.

Правила работы

Во время загрузки аппарата А, аппарат Б должен находиться в режиме отгона или клапаны 4 и 5 второго аппарата должны быть открыты.

Регулируйте подачу пара в отгонную емкость. При очень бурном кипении жидкости во внутреннем резервуаре переключатель нагрева Р поставьте в положение 2 или 1. Следите за уровнем воды в парообразователе по водомерной трубке, доливайте воду по мере необходимости.

Ход работы

В химический стакан емкостью 100 $см^3$ (приемник) налить из бюретки 20 $см^3$ 2%-го H_3BO_3, добавить 2 – 3 капли индикатора Гроака (лиловая окраска). Приемник поставить на откидной столик прибора (9); конец холодильника опустить в кислоту.

Взять пипеткой 20 $см^3$ испытуемого раствора и залить в отгонную емкость А через воронку 1, обмыть воронку небольшим количеством воды, прилить цилиндром 20 $см^3$ 40%-й щелочи (NaOH или KOH), обмыть воронку и закрыть ее пластмассовой пробкой. Включить подачу пара в отгонную колбу, открыв клапан 4. Клапан 5 закрыть.

Отгон проводить в течение 10 – 15 мин. после изменения окраски жидкости в приемнике из фиолетовой в зеленую, регулируя интенсивность нагрева парообразователя и охлаждения холодильника. Когда объем жидкости увеличится в 2 – 2,5 раза, отгон считается законченным.

Обмыть носик холодильника из промывалки. Отставить стакан приемник для последующего титрования. Содержимое приемника титруют 0,01 н. раствором серной кислоты до перехода зеленой окраски раствора аммиака в борной кислоте в фиолетовую.

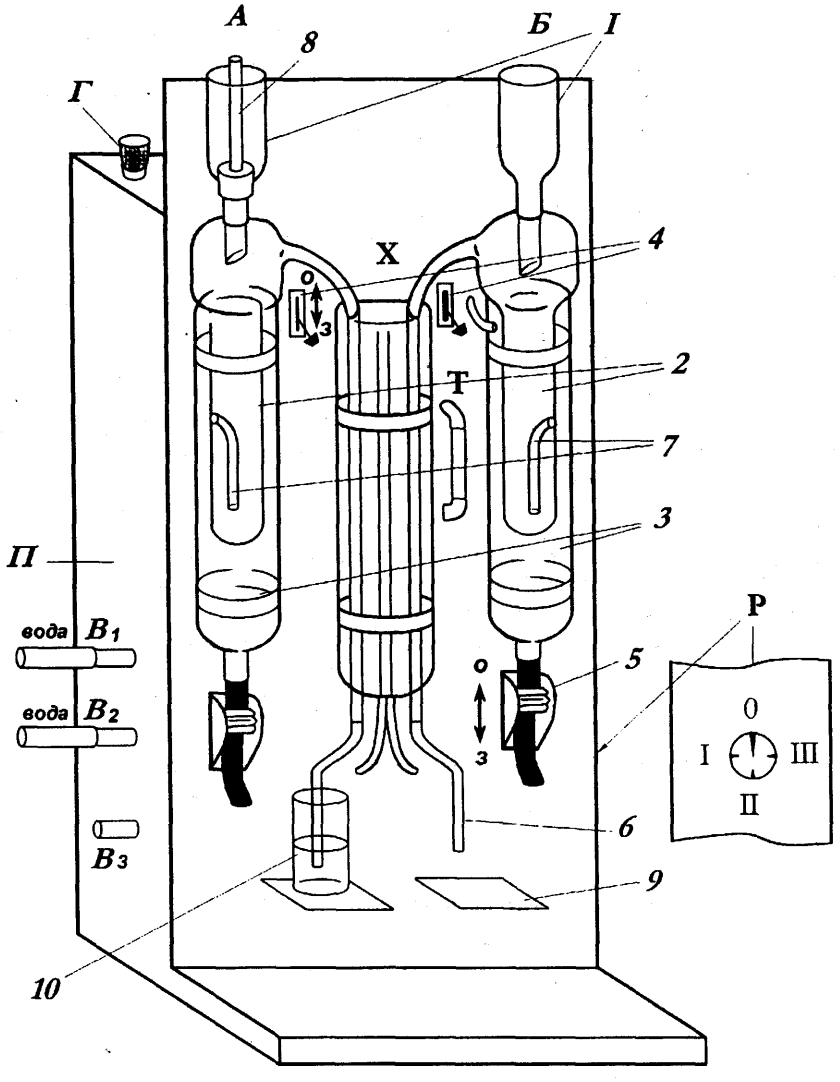


Рис. 26. Схема аппарата микрокьельдаль:

А, Б – аппарат микрокьельдаль. B_1 – подача воды в холодильник аппарата А и Б, B_2 – слив воды из холодильника, B_3 – сброс отработанной жидкости холодильника А и Б. Г – горловина парообразователя. П – парообразователь. Х –холодильник водяного охлаждения. Р – регулятор нагрева парообразователя. Т – водомерная трубка; 1 – воронка, 2 – дистилляционный (внутренний резервуар). 3 – внешний резервуар аппарата, 4 – клапан подачи пара. 5 – клапан удаления отработанной жидкости. 6 – нижний конец холодильника аппарата. 7 – трубка подачи пара в дистилляционный резервуар. 8 – пластмассовая пробка. 9 – откидной столик. 10 – приемник с раствором кислоты.

Расчёт

Содержание азота

$$N\,[\%] = \frac{(a - b)\, н._к \cdot 0{,}014 \cdot P \cdot 100}{H},$$

где: a – количество 0,01 н. H_2SO_4 ($см^3$), пошедшей на титрование раствора; b – количество 0,01 н. H_2SO_4 ($см^3$), пошедшей на титрование реактивов (холостое определение); P – разведение; $н._к$ – нормальность H_2SO_4 (мг·экв); H – навеска, г; $0{,}014$ – мг-экв азота.

Перезарядка прибора

1. Закрыть клапан подачи пара 4, отработанная жидкость за счет разряжения автоматически перебросится из внутреннего во внешний резервуар отгонной емкости.

2. После переброса жидкости открыть клапан 5 для удаления отработанной смеси.

3. Открыть пластмассовую пробку, промыть внутренний резервуар отгонной емкости. Для этого через воронку А прилить приблизительно 20 $см^3$ дистиллированной воды. Закрыть клапан 5!

4. Вода из внутреннего резервуара перетекает во внешний резервуар отгонной емкости. Открыть клапан 5 для удаления промывных вод. После этого аппарат использовать для следующего отгона.

Реактивы

1. 2%-я борная кислота. 20 г H_3BO_3 растворить в химическом стакане при нагревании в дистиллированной воде, количественно перенести в мерную колбу на 1 $дм^3$, довести до метки, перемешать.

2. 0,01 н. H_2SO_4 готовится из фиксанала или 0,28 $см^3$ концентрированной H_2SO_4, которую приливают в мерную колбу на 1 $дм^3$ к небольшому (200 – 300 $см^3$) количеству дистиллированной воды. Перемешивают. Доводят до метки. Нормальность устанавливают по буре.

3. 40%-й раствор щелочи: 400 г NaOH или KOH растворяют в 600 $см^3$ дистиллированной водой. Растворение ведут в термостойкой фарфоровой посуде под тягой, медленно и осторожно, помешивая фарфоровым шпателем или стеклянной палочкой.

Определение содержания нитратов в растительной продукции

Применение азотных удобрений, особенно в повышенных дозах, способствует изменению не только выноса азота растениями, но и накоплению и изменению состава образующихся в тканях растений азотистых веществ, в том числе небелковых – нитратов и нитритов.

Повышенное накопление нитратов в растениях может быть не только при высоких дозах минеральных азотных удобрений, но и при внесении высоких доз органических удобрений, а также на высокогумусированных почвах, если создаются благоприятные условия для минерализации органического вещества и мобилизации почвенного азота.

Нитраты и нитриты являются естественными компонентами растений, начальным звеном в биосинтезе белка. Использование нитратного азота в метаболизме органических веществ возможно лишь после восстановления нитратов до аммония. Первым промежуточным продуктом восстановления нитратов являются нитриты. Растения, накапливая нитраты и нитриты в больших количествах, не страдают от их избытка, но эти соединения весьма токсичны для человека и животных, особенно опасны нитриты, токсичность которых в 10 раз выше, чем нитратов. Нитриты в организме человека и животных переводят двухвалентное железо гемоглобина в трехвалентное. Образующийся при этом метагемоглобин не способен переносить кислород. Нитриты могут вступать в необратимую реакцию с гемоглобином, образуя нитрозогемоглобин, который тоже не способен переносить кислород, в результате чего наблюдается кислородное голодание тканей живого организма. Кроме того, нитриты в кислой среде реагируют со вторичными аминами, образуя нитрозоамины. Эти соединения наиболее опасны для человека и животных, так как обладают канцерогенными, мутагенными и эмбриотропными действиями на организм. На восстановление нитратов в растениях влияют не столько дозы азота, сколько освещение, агротехника, соотношение питательных веществ, погодные условия, преобладание азота над фосфором и калием в почве, дождливая погода способствует накоплению нитратов в растениях.

Уровень накопления нитратов и нитритов в растениях также зависит от форм применяемых удобрений (азотных), биологических особенностей растений и фазы развития. В процессе вегетации содержание нитратов в растениях, как правило, снижается, поэтому убирать их, особенно овощные культуры, необходимо в оптимальные сроки.

Снижению содержания нитратов способствует также оптимальный световой режим, выбор доз, форм, сроков и способов применения удобрений, а также сбалансированное минеральное питание растений. Так, калий, магний, молибден, сера, марганец, бор и железо в значительной мере способствуют усиленному использованию нитратов в азотном обмене и снижают их количество в растениях.

Повышенное содержание нитратов в овощах и кормах препятствует их использованию в пищу человеку и животным. Поэтому необходим строгий контроль за содержанием нитратов и нитритов в растениеводческой продукции.

Для нитратов и нитритов установлены предельно допустимые концентрации (ПДК) в растениях – в плодах, овощах и кормах (см. табл. 23 и 24 в ПРИЛОЖЕНИИ).

Для определения содержания нитратов в растениях разработан ряд методов. Наибольшее распространение получил в настоящее время и принят стандартным ионометрический экспресс-метод.

Ионометрический метод определения нитратов

Ионометрический метод определения нитратов позволяет проводить экспресс-анализ овощей, зеленых кормов, сена, силоса, сенажа, витаминной муки, корнеплодов и т.д.

Нитраты извлекают раствором алюмокалиевых квасцов с последующим измерением концентрации нитратов в растворе с помощью ион-селективного электрода. Данный метод не пригоден при содержании в анализируемом материале хлоридов в концентрации, в 50 раз превышающей концентрацию нитратов. Чувствительность метода 6 мг/дм^3. Предел определения нитратов в сухом образце 300 см$^{-3}$, в сыром 24–30 см$^{-3}$. Ошибка метода ± 12%.

Ход анализа

Сухой растительный материал предварительно размолоть на лабораторной мельнице до полного прохождения через сито с диаметром отверстий 1 мм. Навеску материала массой 1 ± 0,01 г помещают в колбу 100 – 200 см^3, приливают 50 см^3 1%-го раствора алюмокалиевых квасцов и взбалтывают на ротаторе в течение 3 мин. В полученной суспензии определяют концентрацию нитрат-ионов.

При анализе сырого материала образец предварительно измельчают до размера частиц не более 1 см. Навеску материала 10 г с точностью 0,1 г помещают в стакан гомогенизатора, приливают 50 см^3 1%-го раствора алюмокалиевых квасцов (соотношение 1:5) и гомогенизируют в течение 1 мин при 6000 об./мин. При отсутствии гомогенизатора сырой материал, содержащий твердые ткани, растирают в ступке с прокаленным песком или с битым стеклом до однородной массы и переносят с помощью 50 см^3 1%-го раствора алюмокалиевых квасцов в коническую колбу на 100 - 200 см^3 и встряхивают на ротаторе в течение 3 мин.

В полученной суспензии определяют содержание нитратов.

При определении нитратов в растениях семейства крестоцветных при $pC_{NO_3^-}$ в суспензиях менее 2,5 ед. необходимо разведение в 20 раз, а при $pC_{NO_3^-}$ от 2,5 до 3,0 – в 10 раз. Для этого суспензию фильтруют через бумажный фильтр, берут 2 см^3 фильтрата и добавляют 38 см^3 1%-го раствора алюмокалиевых квасцов при двадцатикратном разбавлении и соответственно 4 и 36 см^3 при десятикратном. В разбавленном фильтрате измеряют концентрацию нитратов.

Измерение *концентрации нитрат-иона* проводится в единицах $pC_{NO_3^-}$ ($pC_{NO_3^-} = - \log (C_{NO_3^-})$) по шкале иономера, предварительно отградуированной по растворам сравнения или в милливольтах с последующим определением величины $pC_{NO_3^-}$ по градуировочному графику, построенному по результатам измерения ЭДС электронной пары в растворах сравнения. Перед измерением нитратный ионселективный электрод тщательно ополаскивают дистиллированной водой и выдерживают в ней 10 мин.

Измерение концентрации иона нитрата в единицах $pC_{NO_3^-}$ по шкале прибора

При непосредственном измерении $pC_{NO_3^-}$ прибор ежедневно настраивают в режиме «pX» по растворам сравнения с $pC_{NO_3^-}$ равным 2 и 4, используя соответствующие ручки прибора. Раствор с $pC_{NO_3^-}$ = 3 используют для контроля настройки. Отклонение значений $pC_{NO_3^-}$ от указанных не должно превышать 0,02 единицы. После градуировки прибора электроды тщательно ополаскивают дистиллированной водой, осушают фильтровальной бумагой и погружают в испытуемый раствор. Показания прибора считывают через 1 мин. после прекращения заметного дрейфа стрелки прибора. При переходе от одной пробы к другой электроды ополаскивают дистиллированной водой и промокают фильтровальной бумагой.

Температура анализируемых растворов и растворов сравнения должна быть одинаковой. Настройку прибора проверяют по растворам сравнения не менее 3 раз в течение рабочего дня, используя каждый раз свежие порции растворов.

Измерение концентрации иона нитрата в милливольтах

При измерении в милливольтах тумблер «Род работы» ставят в положение «мВ» и проводят измерение ЭДС в растворах сравнения, начиная с низшей концентрации. Электрод имеет линейную функцию в диапазоне от 1,0 до 4,0 ед. $pC_{NO_3^-}$ с наклоном (56 ± 3) мВ на ед. $pC_{NO_3^-}$. Если характеристика электрода отличается от заданной, электрод не пригоден для работы.

Величину $pC_{NO_3^-}$, в анализируемых пробах рассчитывают по градуировочному графику, построенному по результатам измерения ЭДС в растворах сравнения с $pC_{NO_3^-}$, равным 1, 2, 3, и 4.

Обработка результатов.

Массовую долю нитратов в мг/кг продукции находят по величине $pC_{NO_3^-}$ с помощью вспомогательных табл. 26 – 28 для анализа сухого материала, для анализа материала, содержащего 80 – 90% воды (огурцы, томаты, арбузы, дыни, капуста, лук на перо) и для анализа материала, содержащего 70 – 80% воды (картофель, морковь, столовая свекла, лукрепка).

Реактивы

1. 1%-й раствор алюмокалиевых квасцов (экстрагирующий раствор). 10.0 ± 0.01 г алюмокалиевых квасцов (ГОСТ 4329, «ч.д.а.») помещают в колбу на 1 $дм^3$, растворяют и доводят до метки дистиллированной водой. Раствор можно хранят в банке с притертой пробкой не более 1 года. При появлении осадка или мути раствор заменяют новым.

2. Основной раствор концентрации 0.1 моль/л (раствор 1). 10.11 ± 0.001 г KNO_3 (ГОСТ 4217, «х.ч.»), высушенного при температуре 100–105°С до постоянной

массы, растворяют в растворе алюмокалиевых квасцов в мерной колбе на 1 $дм^3$ и доводят до метки. Хранят в склянке с плотно притертой пробкой не более 1 года.

3. Растворы сравнения. Готовят из основного раствора KNO_3 в день проведения анализа, используя для разбавления 1%-й раствор алюмокалиевых квасцов.

Раствор с концентрацией $C(NO_3^-)$=0,01 моль/литр ($pC_{NO_3^-}$ = 2) готовят десятикратным разбавлением основного раствора (1).

Раствор с концентрацией $C(NO_3^-)$=0,001 моль/литр ($pC_{NO_3^-}$=3) готовят десятикратным разбавлением раствора (2).

26. Перевод величин $pC_{NO_3^-}$ в массовую долю нитрата при анализе материала с содержанием воды 80 – 90%

$pC_{NO_3^-}$	Сотые доли $pC_{NO_3^-}$ массовая доля нитрата, мг/кг									
	0,00	*0,01*	*0,02*	*0,03*	*0,04*	*0,05*	*0,06*	*0,07*	*0,08*	*0,09*
1,6	9188	8979	8575	8375	8383	8189	8003	7821	7643	7469
1,7	7299	7133	6970	6812	6656	6505	6357	6212	6071	5933
1,8	5798	5666	5537	5411	5287	5267	5049	4935	4822	4712
1,9	6405	4500	4398	4298	4200	4104	4011	3920	3830	3743
2,0	3658	3575	3493	3414	3336	3260	3186	3113	3043	2973
2,1	2906	2840	2775	2712	2650	2590	2531	2474	2417	2362
2,2	2308	2256	2204	2154	2105	2057	2010	1964	1920	1876
2,3	1833	1792	1751	1711	1672	1634	1597	1560	1525	1490
2,4	1456	1423	1391	1359	1328	1298	1268	1239	1211	1184
2,5	1157	1130	1105	1080	1055	1031	1007	985	962	940
2,6	919	898	877	858	838	819	800	782	764	747
2,7	730	713	697	681	666	650	636	621	607	593
2,8	580	567	544	541	529	517	505	493	482	471
2,9	461	450	440	430	420	410	401	392	383	374
3,0	366	387	349	341	334	326	319	311	304	297
3,1	291	284	277	271	265	259	253	247	242	236
3,2	231	226	220	215	210	206	201	196	192	188
3,3	183	179	170	171	167	163	160	156	152	149
3,4	146	142	139	136	137	130	127	124	121	118
3,5	116	113	110	108	105	103	101	98,0	96,6	94
3,6	91,9	89,8	87,7	85,8	83,3	81,9	80,0	78,2	76,4	74,7
3,7	73	71	69,7	68,1	66,6	65,0	63,6	61,1	60,7	59,3
3,8	58	56,7	55,4	54,1	52,9	51,7	50,5	49,3	48,2	47,1
3,9	46,1	45,0	44,0	43,0	42,0	41,0	40,1	39,3	38,3	37,4
4,0	36,1	35,7	34,9	34,1	33,4	32,6	30,9	31,1	30,4	29,7

Раствор с концентрацией $C(NO_3^-)$=0.0001 моль/литр ($pC_{NO_3^-}$=4) готовят десятикратным разбавлением раствора (3).

Полученные растворы используют для градуировки иономера, проверки электродов и построения градуировочного графика.

4. Калий хлористый (ГОСТ 4234, «х.ч»).

5. Дистиллированная вода.

27. Перевод величин $pC_{NO_3^-}$ в массовую долю нитрата при анализе материала с содержанием воды 70 – 80%

$pC_{NO_3^-}$	Сотые доли $pC_{NO_3^-}$ массовая доля нитрата, мг/кг									
	0,00	*0,01*	*0,02*	*0,03*	*0,04*	*0,05*	*0,06*	*0,07*	*0,08*	*0,09*
1,6	9033	8827	8626	8430	8238	8003	7867	7688	7513	7342
1,7	7175	7012	6852	6696	6544	6357	6249	6107	5968	5832
1,8	5699	5570	5443	5319	5198	5079	4964	4851	4740	4633
1,9	4527	4424	4323	4225	4129	4035	3943	3853	3665	3680
2,0	3596	3514	3434	3356	3280	3205	3132	3061	2991	2923
2,1	2856	2791	2728	2666	2605	2546	2488	2431	2376	2322
2,2	2269	2217	2167	2117	2069	2022	1976	1931	1887	1844
2,3	1802	1761	1721	1682	1644	1606	1570	1534	1499	1465
2,4	1432	1399	1367	1366	1306	1276	1247	1218	1191	1164
2,5	1137	1111	1086	1061	1037	1013	990	968	946	924
2,6	903	883	863	843	824	805	787	769	751	734
2,7	717	701	685	670	654	639	625	611	597	583
2,8	570	557	544	532	520	508	495	485	474	463
2,9	453	442	432	422	413	403	394	385	377	368
3,0	360	351	343	336	328	320	313	306	299	292
3,1	286	279	273	267	261	255	249	243	238	232
3,2	227	222	217	212	207	202	198	193	189	184
3,3	180	176	172	168	164	161	157	153	150	146
3,4	143	140	137	134	131	128	125	122	119	116
3,5	114	111	109	106	104	101	99	97	95	92
3,6	90,3	88,7	86,3	84,3	82,4	80,5	78,7	76,9	75,1	74,4
3,7	71,7	70,1	68,5	67,0	65,4	63,9	62,5	61,1	59,7	58,3
3,8	57,0	55,7	54,4	53,2	52,0	50,8	49,6	48,5	47,4	46,3
3,9	45,3	44,2	43,2	42,2	41,3	40,3	39,4	38,5	37,7	36,8
4,0	36,0	35,1	34,3	33,6	32,8	32,0	31,3	30,6	29,9	29,2

28. Перевод величин $pC_{NO_3^-}$ в массовую долю нитрата при анализе сухого материала (соотношение массы пробы и объема экстрагирующего раствора – 1:50)

$pC_{NO_3^-}$	Сотые доли $pC_{NO_3^-}$: массовая доля нитрата, мг/кг									
	0,00	*0,01*	*0,02*	*0,03*	*0,04*	*0,05*	*0,06*	*0,07*	*0,08*	*0,09*
2,0	30900	30200	29510	28840	28180	27540	26920	26300	25700	25220
2,1	24550	23990	23440	22910	22390	21880	21380	20890	20420	19950
2,2	19500	19050	18620	18200	17780	17380	16980	16600	16220	15850
2,3	15490	15140	14790	14450	14130	13800	13490	13180	12880	12590
2,4	12300	12020	11750	11480	11220	10960	10720	10470	10230	10000
2,5	9772	9550	9333	9120	8913	8820	8511	8318	8128	7943
2,6	7762	7586	7413	7244	7079	6918	6761	6607	6457	6310
2,7	6166	6026	5888	5754	5623	5495	5370	5248	5129	5012
2,8	4898	4786	4677	4571	4467	4365	4266	4169	4074	3984
2,9	3980	3802	3715	3631	3548	3467	3388	3311	3236	3182
3,0	3090	3020	2951	2884	2818	2754	2692	2630	2570	2512
3,1	2455	2399	2344	2291	2239	2188	2138	2089	2042	1995
3,2	1950	1905	1862	1820	1778	1739	1698	1660	1622	1585
3,3	1549	1514	1479	1445	1413	1380	1349	1318	1288	1259
3,4	1230	1202	1175	1148	1122	1095	1072	1047	1023	1000
3,5	977	955	933	912	891	871	851	832	813	794
3,6	775	759	741	724	708	692	676	661	646	631
3,7	617	603	589	575	562	549	537	525	513	501
3,8	490	479	468	457	447	437	427	417	407	398
3,9	389	380	317	363	355	347	339	331	324	316
4,0	309									

Оборудование

1. Весы лабораторные (до 500 г).
2. Колбы мерные на 50 и 100 $см^3$.
3. Гомогенизатор (6000 об./мин.).
4. Скальпель.
5. Ротатор.
6. Терка.
7. Мезгообразователь.
8. Фарфоровая ступка.

Подготовка мембранного ионселективного нитратного электрода и вспомогательного электрода к работе. Мембранный электрод ЭМ-NO_3-01

1. Внутреннюю полость электрода дважды промыть дистиллированной водой, затем дважды промыть приэлектродным раствором с концентрацией 0,1 и 0,005 моль/$дм^3$ KCl.
2. Снять чехол и установить мембрану, предварительно залив в корпус 1,5 $см^3$ свежеприготовленного раствора 0,1 моль/$дм^3$ KNO_3.
3. Вымочить мембрану в корпусе электрода в течении суток в растворе с концентрацией 0,1 моль/$дм^3$ KNO_3.
4. В перерывах между работой нитратный электрод хранить в растворе KNO_3 с концентрацией 0,1 моль/$дм^3$.

Вспомогательный электрод. Залить внутрь электрода насыщенный при 20°С раствор KCl и выдержать его в этом растворе в течение суток.

Определение содержания нитратов с помощью нитратомера НМ-002

Нитратомер НМ-002 предназначен для экспресс-анализа азота нитратов в водных растворах проб почвы, воды и растительной продукции методом прямой потенциометрии с помощью электродной системы, включающей ионселективный и вспомогательный электроды.

Подготовка к анализу материалов, реактивов и электродов та же, что и при определении нитратов описанным выше методом.

Нитратомер может работать в режиме измерения концентрации азота нитратов от 1,5 до 1999 мг/кг, а также в режиме определения абсолютного значения ЭДС от 0 до 1000 мВ, либо приращения ЭДС электродной системы от -199 до +199 мВ.

Измерительный преобразователь нитратомера НМ-002 преобразует ЭДС электродной системы в измеряемой пробе в значение концентрации азота нитратов в соответствии со статистической функцией:

$$C = K \cdot 10 \cdot \frac{E - E_1}{S},$$

где: C – концентрация азота, мг/кг; K – коэффициент пропорциональности, устанавливаемый методикой подготовки пробы и учитываемый при калибровке прибора, K = 1,0 – 15 мг/кг; E_1 – ЭДС электродной системы в калибровочном растворе, соответствующем известной концентрации азота нитратов C_1, E_1 = (0 ± 1000) мВ; S – крутизна характеристики электродной системы, S = ± (5,6 ± 6) мВ при 20°С; E_1 – характеристика электродной системы,

$E = E_0 + pC_{NO_3^-}$, где: E_0 – ЭДС электродной системы при $pC_{NO_3^-} = 0$ – величина, зависящая от данного измерительного и вспомогательного электродов, E_0 = (0 ± 1000) мВ.

При анализе почвы, пересчет величины $pC_{NO_3^-}$ в массовую долю азота нитратов используют К = 3,5 мг/кг (по ГОСТу).

При анализе растений устанавливается пересчетный коэффициент К = 3,6 мг/кг при анализе продукции с содержанием воды 70 – 80%,
К = 3,66 мг/кг при анализе продукции с содержанием воды 80 – 90%.
Для расчета концентрации нитратов в пробе растений результат измерения следует умножить на 10.

Калибровка прибора

1. Калибровку прибора начинают с раствора с наименьшей концентрацией $pC_{NO_3^-} = 4$.

2. Промытые дистиллированной водой и протертые фильтровальной бумагой электроды поместить в раствор с $pC_{NO_3^-} = 4$.

3. Через 1–2 мин при нажатой кнопке «>0<» установить на жидкокристаллическом индикаторе (ЖКИ) «0.00 мВ». отжать кнопку «>0<».

4. Регулировкой «К1» установить на ЖКИ «03.6» при анализе растительной пробы или «03.5» при анализе почвы.

5. Вынуть электроды из раствора, промыть дистиллированной водой, протереть и поместить в раствор с $pC_{NO_3^-} = 2$. Нажать кнопку ">0<".

6. Через 1–2 мин записать приращение ЭДС электродной системы в растворе с $pC_{NO_3^-} = 2$.

7. Отжать кнопку «>0<».

8. Регулировкой «К2» установить на ЖКИ 360 или 366 при анализе растительной пробы, в зависимости от характера исследуемого материала, или 350 – при анализе почвы. Вынуть электроды из раствора, поместить в дистиллированную воду, объемом не менее 50 $см^3$ и промыть в ней до показаний иономера менее «01,0». При необходимости сменить воду и повторить промывку. Электроды протереть и поместить в раствор с $pC_{NO_3^-} = 3$. Нажать кнопку «>0<».

9. Через 1,5 – 2 мин записать приращение ЭДС системы в растворе с $pC_{NO_3^-} = 3$. Нажать кнопку «>0<». Записать показания иономера.

10. В контрольном растворе с $pC_{NO_3^-} = 3$ после калибровки прибора на ЖКИ должно высветиться «36,0 ± 4,2» или «36,6 ± 4,2» при анализе растений, или «35,0 ± 4,2» при анализе почвы.

Приращение ЭДС при переходе от раствора с $pC_{NO_3^-} = 4$ к раствору с $pC_{NO_3^-} = 3$ или от раствора с $pC_{NO_3^-} = 3$ к раствору с $pC_{NO_3^-} = 2$ должно составлять не менее 53 мВ при 25°С.

После калибровки прибора электроды ополаскивают в дистиллированной воде и промокают фильтровальной бумагой. Затем проводят определение в исследуемых растворах.

При перерывах в работе более 1 ч электроды хранят в 0,0001 н. растворе KNO_3.

Аппаратура

Иономер типа ЭВ-74, pH–милливольтметр pH-340, pH-121, pH-150 или аналогичные приборы с погрешностью измерения 5 мВ/0,06 $pC_{NO_3^-}$.

Электроды: ионселективные типа ELIT 021 (и аналогичные) и электрод сравнения – хлорсеребряный, насыщенный образцовый 2-го разряда по ГОСТу 17792.

Определение содержания нитратов в тканях, мезге и соке растительной продукции с помощью нитратного ионоселективного датчика (модификация ЦИНАО)

Метод основан на определении концентрации нитратов в продукции растениеводства при непосредственном их измерении в тканях растений и плодах или в мезге (измельченной массе) с помощью нитратного ионоселективного датчика. Нижний предел обнаружения нитратов – 6 мг на 1 $дм^3$ анализируемого раствора. Предел надежного определения нитратов в анализируемой пробе – 12 $млн.^{-1}$ (мг/кг).

Подготовка электродов к анализу.

Мембранный ионоселективный нитратный электрод и хлорсеребряный электрод сравнения готовят к работе в соответствии с инструкциями, прилагаемыми к ним.

В промежутках между измерениями нитратный ионоселективный электрод погружают в раствор с $pC_{NO_3^-} = 4$. Если перерывы в работе составляют сутки и более, электрод хранят в растворе азотнокислого калия с концентрацией $c(NO_3^-) = 0{,}001$ моль/дм^3. При длительных перерывах в работе (более 5 дней), электрод хранят на воздухе, а перед началом работ вымачивают электрод в растворе азотнокислого калия с концентрацией $c(NO_3^-) = 0{,}1$ моль/дм^3. В обоих случаях перед началом измерений электрод промывают в дистиллированной воде не менее трех раз.

Хлорсеребряный электрод сравнения в перерывах между исследованиями погружают в стакан с дистиллированной водой или хранят в соответствии с инструкцией к датчику.

Подготовка проб к анализу

Для анализа берется представительная проба. Рекомендуется от реализуемой партии 5–50 кг брать из одной точки пробу арбуза, дыни, капусты, кабачков (I группа) до 3 кг; свеклы, моркови, картофеля, баклажана, перца, огурца, яблока (II группа) до 1 кг; редиса, петрушки, салата, лука, укропа до 0,25 кг; ягод до 0,050 кг (III группа).

Если реализуемая партия продукции составляет 50–500 кг, то соответственно берут пробу для I группы из трех точек – 3–5 кг, для II группы из 5 – 8 точек – 7 кг, для III группы из 20 точек – 0,5 кг, а ягод – до 0,100 кг и т.д.

Картофель, корнеплоды, плоды и овощи, отобранные для анализа, должны быть отмыты от земли, обсушены фильтровальной бумагой или сухой мягкой тканью.

Для непосредственного измерения нитратов в продукции растениеводства пробы для анализа готовятся в зависимости от вида растений, их консистенции и распределения нитратов в различных частях растений и плодов.

Для ряда культур непосредственное измерение нитратов в измельченной массе не представляется возможным в связи с завышением результатов при данном способе определения. К таким культурам относятся слива, вишня, персики, груши, яблоки и крыжовник. Для этих культур с невысоким содержанием нитратов с целью повышения точности измерений предлагается проводить определение в суспензии с алюмокалиевыми квасцами при отношении пробы к экстрагенту 1 : 1.

Подготовка проб для непосредственного измерения нитратов в тканях или мезге.

В культурах с мягкой консистенцией округлой формы, где нитраты распределены равномерно по всей ткани, измерение их следует проводить следующим образом:

♦ в томатах на продольном разрезе в перемешанную мякоть погружают нитратный датчик (ионоселективный электрод) и проводят измерение в единицах, предусмотренных инструкцией к прибору;

♦ в ягодных культурах (земляника, виноград, красная смородина) следует раздавить ягоды, перемешать и сделать замеры в мезге с помощью нитратного датчика;

♦ в плодах семейства тыквенных (тыква, огурцы, дыни, арбузы, баклажаны, кабачки, патиссоны) содержание нитратов распределено послойно, повышаясь от центра к периферии, достигая максимума около кожуры и в самой кожуре. Неравномерное распределение нитратов наблюдается и по продольной оси, снижаясь от места прикрепления плода к противоположному концу. Поэтому измерение нитратов следует проводить в продольном разрезе.

• у арбуза продольный разрез делается с учетом того, чтобы для анализа использовалась, как затемненная, так и бывшая на солнце сторона арбуза; теркой или ножом делается соскоб по всей поверхности съедобной части арбуза (без корки), масса разминается, перемешивается и в мезгу помещается нитратный датчик для измерения;

• у дани и тыквы удаляются внутренняя семенная часть и несъедобная корка и делается соскоб вдоль всей длины 1/4 части продольного разреза;

• у огурцов, кабачков, баклажанов и патиссонов соскоб теркой или ножом делается со всей поверхности продольного разреза по центру. В полученной от соскоба мезге, предварительно перемешанной, проводят измерение нитратов.

В корнеплодах (морковь, свекла) нитраты распределены неравномерно. Наибольшее содержание нитратов наблюдается в тканях проводящей системы, т.е. в сердцевине корнеплода, а максимум приходится на кончик корнеплода с постепенным снижением к верхушке (к листовой розетке), максимум также наблюдается в нижней части черешков листьев.

Для измерения нитратов используется мезга, полученная при равномерном соскобе теркой на продольном разрезе корнеплода по центру. Полученная мезга перемешивается, и нитраты измеряют, используя нитратный датчик.

В клубнеплодах (картофель) содержание нитратов распределено равномерно по ткани клубня с некоторым повышением в шкурке. Делается соскоб теркой или ножом по всей поверхности продольного разреза по центру. В перемешанную мезгу помещают нитратный датчик для измерения нитратов.

В культурах семейства капустных (редис, редька, репа и капуста разных видов) определение непосредственно в тканях или мезге не рекомендуется, так как определению мешают тиогликозиды.

В зеленных культурах (салат, укроп, петрушка, сельдерей, кинза) максимум содержания нитратов приходится на основание листа (черешок). Поскольку измельчать зеленные – это трудоемкий процесс, следует из черешков выдавить сок и измерить в нем содержание нитратов нитратным датчиком. Положительную оценку качества продукции можно делать в случае, если содержание нитратов не превышает ПДК.

Для предварительной оценки качества продукции на содержание нитратов в вышеперечисленных культурах можно пользоваться индикаторными точками, где сосредоточено максимальное содержание нитратов.

Индикаторные точки:

- для огурца, дыни, патиссона, арбуза, кабачка, баклажана – части плода у места прикрепления к растению,
- для томатов, картофеля, ягод, яблок, груш и косточковых плодов – около кожуры;
- для корнеплодов – на кончике корнеплода и у основания розетки листьев;
- для зеленных культур – нижняя часть основания черешка;
- для капусты – в кочерыжке и у основания жилки верхних листьев.

В индикаторных точках с помощью ножа или терки делают соскоб и в полученной измельченной массе измеряют нитраты с помощью ионоселективного датчика.

Если в индикаторных точках содержание нитратов не превышает ПДК, то эти результаты можно использовать для положительной оценки качества продукции.

При анализе культур с низким содержанием нитратов (яблоки, сливы, персики, крыжовник, груши, вишни и др.), если в измельченной массе полученные результаты содержания нитратов превышают ПДК, берется навеска измельченной массы 20 г и заливается 20 $см^3$ алюмокалиевых квасцов (концентрации 0,01 моль/$дм^3$). Суспензия перемешивается в течение трех минут на мешалке или гомогенизируется 1 мин. В полученном растворе измеряют концентрацию нитратов.

Ход анализа

В приготовленных для анализа пробах проводят измерение концентрации нитрат-ионов *непосредственно в логарифмических единицах* $pC_{NO_3^-}$ ($pC_{NO_3^-} = - log (C_{NO_3^-})$) по шкале иономера, предварительно отградуированного по растворам сравнения, или в милливольтах с последующим определением величины $pC_{NO_3^-}$ по градуировочному графику, построенному по результатам измерения ЭДС электродной пары

в растворах сравнения или в единицах концентрации в соответствии с инструкцией к прибору.

Перед измерениями и после градуировки прибора электроды тщательно ополаскивают дистиллированной водой, промокают фильтровальной бумагой и погружают в испытуемые пробы. Показания прибора считывают не менее чем через 1 мин. после прекращения заметного дрейфа показаний прибора. При переходе от одной пробы к другой электроды ополаскивают дистиллированной водой и промокают фильтровальной бумагой. Температура анализируемых проб и растворов сравнения должна быть одинаковой. Настройку прибора проверяют по растворам сравнения не менее 3 раз в течение рабочего дня, используя каждый раз свежие порции раствора сравнения. Перед каждой проверкой настройки иономера нитратный ионоселективный электрод выдерживают в растворе сравнения концентрации $pC_{NO_3^-}$ – 0,0001 моль/дм^3 в течение 3–4 мин.

При непосредственном измерении концентрации нитрат-ионов в единицах $pC_{NO_3^-}$ прибор ежедневно настраивают в режиме «pX» по растворам сравнения с концентрацией $c(NO_3^-)$ = 0,0001 моль/дм^3 ($pC_{NO_3^-}$ = 4) и $c(NO_3^-)$ = 0,01 моль/дм^3 ($pC_{NO_3^-}$ = 2), используя раствор $c(NO_3^-)$ = 0,001 моль/дм^3 для контроля. Отклонения значений $pC_{NO_3^-}$ от номинального значения не должны превышать 0,02 единицы $pC_{NO_3^-}$.

Массовую долю нитрат-иоиов определяют по значениям величин $pC_{NO_3^-}$ растворов сравнения с помощью вспомогательных табл. 29, 30.

При измерении концентрации иона нитрата в режиме «мВ» определение проводят, используя калибровочный график и снимая показания ЭДС в милливольтах.

Содержание нитратов в пробах находят, используя калибровочный график, построенный на миллиметровой бумаге. По оси абсцисс откладывают величины $c(NO_3^-)$, соответствующие растворам сравнения азотнокислого калия в молях:
с концентрацией $c(NO_3^-)$ =0,1 моль/дм^3 ($pC_{NO_3^-}$ = 1);
с концентрацией $c(NO_3^-)$ = 0,01 моль/дм^3 ($pC_{NO_3^-}$ = 2);
с концентрацией $c(NO_3^-)$ =0,001 моль/дм^3 ($pC_{NO_3^-}$ = 3);
с концентрацией $c(NO_3^-)$ = 0,0001 моль/дм^3 ($pC_{NO_3^-}$ = 4);
По оси ординат откладывают величины ЭДС, мВ. По калибровочному графику находят значения величины $c(NO_3^-)$ и с помощью уравнений *(I или II – см. далее)* или табл. 29 или 30 определяют содержание нитрат-ионов (мг/кг) в исследуемом объекте.

При работе с приборами, имеющими преобразователи величины $c(NO_3^-)$ или моль/дм^3 в значения концентрации иона нитрата в исследуемой продукции, настройку проводят непосредственно в

единицах массовой доли нитрата в миллионных долях (мг/кг) по растворам сравнения, предусмотренным в инструкции к прибору.

29. Перевод величин $pC_{NO_3^-}$ в массовую долю нитрата при непосредственном анализе мезги, сока, тканей

$pC_{NO_3^-}$	Сотые доли $pC_{NO_3^-}$ массовая доля нитрата, мг/кг									
	0,00	*0,01*	*0,02*	*0,03*	*0,04*	*0,05*	*0,06*	*0,07*	*0,08*	*0,09*
1,0	4960	4847	4737	4629	4524	4421	4320	4222	4126	4032
1,1	3940	3850	3763	3677	3593	3511	3431	3353	3277	3202
1,2	3130	3058	2969	2921	2854	2789	2726	2664	2603	2544
1,3	2486	2429	2374	2320	2267	2216	2165	2116	2068	2021
1,4	1975	1930	1886	1843	1801	1760	1720	1681	1642	1605
1,5	1568	1533	1498	1464	1430	1398	1366	1335	1305	1275
1,6	1246	1218	1190	1163	1136	1110	1085	1060	1036	1013
1,7	990	967	945	924	903	882	862	842	823	804
1,8	786	768	751	734	717	685	685	669	654	639
1,9	684	610	596	583	569	587	544	531	519	508
2,0	496	485	474	463	452	448	432	422	413	403
2,1	394	385	376	368	359	351	343	335	328	320
2,2	313	306	299	292	285	279	273	266	260	254
2,3	249	243	237	232	227	222	217	212	207	202
2,4	197	193	189	184	180	176	172	168	164	161
2,5	157	153	150	146	143	140	137	134	130	127
2,6	125	122	119	116	114	111	109	106	104	101
2,7	99,0	96,7	94,5	92,4	90,3	88,2	86,2	84,2	82,3	80,4
2,8	78,6	76,8	76,1	73,4	71,7	70,1	68,6	66,9	65,4	63,9
2,9	62,4	61,0	59,4	58,3	56,9	55,7	54,4	53,1	51,9	50,8
3,0	49,6	48,5	47,4	46,3	45,2	44,2	43,8	42,2	41,3	40,3
3,1	39,4	38,6	39,6	36,8	35,9	35,1	34,3	33,5	32,8	32,0
3,2	31,3	30,6	29,9	29,2	28,5	27,9	27,3	26,6	26,0	25,4
3,3	24,9	24,3	23,7	23,2	22,7	22,2	21,7	21,2	20,7	20,2
3,4	19,7	19,3	18,9	18,4	18,0	17,6	17,2	16,8	16,4	16,1
3,5	15,7	15,3	15,6	14,6	14,3	14,0	13,7	13,4	13,0	12,7
3,6	12,5	12,2	11,9	11,6	11,4	11,1	10,9	10,6	10,4	10,1
3,7	9,9	9,7	9,5	9,2	9,0	8,8	8,6	8,4	8,2	8,0
3,8	7,9	7,7	7,5	7,3	7,2	7,0	6,8	6,7	6,5	6,4
3,9	6,2	6,1	6,0	5,8	5,7	5,6	5,4	5,3	5,2	5,1
4,0	5,0	4,8	4,7	4,6	4,5	4,4	4,3	4,2	4,1	4,0

30. Перевод величин $pC_{NO_3^-}$ в массовую долю нитрата при анализе винограда, земляники, смородины, косточковых: сливы, вишни, черешни (анализ вытяжки при отношении пробы к раствору 1: 1)

$pC_{NO_3^-}$	Сотые доли $pC_{NO_3^-}$: массовая доля нитрата, мг/кг									
	0,00	*0,01*	*0,02*	*0,03*	*0,04*	*0,05*	*0,06*	*0,07*	*0,08*	*0,09*
1,1	9357	9144	8936	8733	8534	8340	8150	7964	7783	7606
1,2	7433	7263	7098	6937	6779	6624	6474	6326	6182	6042
1,3	5904	5770	5638	5510	5384	5262	5142	5025	4911	4799
1,4	4690	4583	4479	4377	4277	4180	4085	3982	3901	3812
1,5	3725	3640	3558	3477	3397	3320	3244	3171	3098	3028
1,6	2959	2892	2826	2762	2699	2637	2577	2519	2461	2405
1,7	2350	2297	2245	2194	2144	2095	2047	2001	1955	1910
1,8	1867	182	1783	1742	1703	1664	1626	1588	1553	1518
1,9	1483	1449	1416	1384	1353	1322	1292	1262	1234	1205
2,0	1178	1151	1125	1099	1074	1050	1026	1003	980	958
2,1	936	914	894	873	853	834	815	796	778	761
2,2	743	726	710	694	678	662	647	633	618	604
2,3	590	577	564	551	538	526	514	503	491	480
2,4	469	458	448	438	428	418	408	399	390	381
2,5	373	364	356	348	340	332	324	317	310	303
2,6	296	289	283	276	270	264	258	252	246	241
2,7	235	230	224	219	214	209	205	200	195	191
2,8	187	182	178	174	170	166	163	159	155	152
2,9	148	145	142	138	135	132	129	126	123	121
3,0	118	115	112	110	107	105	103	100	98	96
3,1	93,6	91,4	89,4	87,3	85,3	83,4	81,5	79,6	77,8	76,1
3,2	74,3	72,6	77,0	69,4	67,8	66,2	64,7	63,3	61,8	60,4
3,3	59,0	57,7	56,4	55,1	53,8	52,6	51,4	50,3	49,1	48,0
3,4	46,9	45,8	44,8	43,8	42,8	41,8	40,8	39,9	39,0	38,1
3,5	37,3	36,4	35,6	34,8	34,0	33,2	32,4	31,7	31,0	30,3
3,6	29,6	28,9	28,3	27,6	27,0	26,4	25,8	25,2	24,6	24,1
3,7	23,5	23,0	22,4	21,9	21,4	20,9	20,5	20,0	19,5	19,1
3,8	18,7	18,2	17,8	17,4	17,0	16,6	16,3	15,9	15,5	15,2
3,9	14,8	14,5	14,2	13,8	13,5	*13,2*	12,9	12,6	12,3	12,1
4,0	11,8	11,5	11,2	11,0	10,7	10,5	10,3	10,0	9,8	9,6

Обработка результатов

Если при анализе использовалась навеска измельченной пробы, то массовую долю нитратов в испытываемом материале ***(X)*** в миллионных долях (млн$^{-1}$, мг/кг) рассчитывают по формуле ***(I)***:

$$X = \frac{(V + W \cdot н/(100 \cdot 1)) \cdot 10^{-pC_{NO_3^-}} \cdot 62 \cdot 10^6}{100 \cdot н} \qquad (I)$$

При непосредственном измерении нитратов в тканях растительной продукции (мезге) массовую долю нитратов рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{10^{-pC_{NO_3^-}} \cdot 62 \cdot 10^6}{1000} \qquad (II)$$

где *62* – молярная масса иона нитрата, г; *н* - масса пробы, взятой для анализа, г; *V* – объем экстрагирующего раствора, см^3; $10^{-pC_{NO_3^-}}$ – концентрация нитрата в вытяжке, моль/дм^3; *1000* – коэффициент перевода дм^3 в см^3; *W* – массовая доля воды в пробе,%, *100* – коэффициент перевода% в доли единиц, 1 – плотность воды, г/см^3, 10^6 – коэффициент перевода долей единицы в миллионные доли (млн$^{-1}$, мг/кг).

Расчеты по приведенным уравнениям можно исключить, используя табл. 29, 30 для перевода величин в массовую долю нитрата в анализируемой пробе. Данные таблиц составлены с учетом среднего содержания влаги в различных культурах растениеводческой продукции.

Оценку качества продукции проводят в соответствии с допустимыми уровнями содержания нитратов в растительных продуктах (табл. 24 в ПРИЛОЖЕНИИ). Допустимые отклонения от ПДК при содержании нитратов до 100 мг/кг – 20%, и свыше 100 мг/кг – 24%.

Реактивы – в дополнение к приведенным на с. 387–389.

1. Основной раствор и растворы сравнения, используемые для определения нитратов непосредственно в тканях и мезге растений, готовят на дистиллированной воде аналогично растворам, описание приготовления которых изложено на с. 388 - 389, без алюмокалиевых квасцов.

Приборы и материалы

1. Электрод ионоселективный нитратный твердоконтактный или другие датчики для измерения нитратов с линейной функцией в диапазоне 1 – 4,5 единиц $pC_{NO_3^-}$.
2. Электрод сравнения хлорсеребряный типа ЭВМ-1М или твердоконтактный.
3. Электрод комбинированный для измерения нитратов. Нитратомеры различных типов с погрешностью не более 5 мВ.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ РАЗЛИЧНЫХ ФРАКЦИЙ ФОСФОРА В РАСТИТЕЛЬНОМ МАТЕРИАЛЕ

Принцип метода состоит в последовательном извлечении фосфора сахарофосфатов, фосфолипидов, нуклеиновых кислот и фосфопротеидов из одной навески вегетативной массы системой экстрагентов при разном временном и температурном режиме, последующем озолении полученных растворов смесью концентрированных кислот серной и хлорной и приготовлении растворов, содержащих фосфор в минеральной форме.

Окрашивание фосфора сульфатмолибденовой жидкостью в присутствии олова, количественное определение фосфора – на колориметре. При этом сахарофосфаты извлекают слабым раствором хлорной кислоты, фосфолипиды – смесью спирт : эфир при многократной обработке осадка в течение 38 ч при комнатной температуре; фосфор нуклеиновых кислот – хлорной кислотой при резком охлаждении и нагревании растворов на бане; фосфор протеидов после сжигания осадка в концентрированной серной кислоте.

Содержание фосфора каждой фракции определяют (в %) по отношению к взятой навеске. Методом мокрого озоления по Лебедянцеву в смеси серной и азотной кислот определяют суммарное или общее содержание фосфора в навеске.

Для оценки влияния биотических и абиотических факторов на процессы обмена в растениях вычисляют долю фосфора каждой фракции по отношению к общему содержанию фосфора в растении (относительное содержание). Например, увеличение дозы фосфорных удобрений против рекомендованных для данного региона или выращиваемой культуры сопровождается увеличением доли минеральных фосфатов. В состоянии стресса (температурного, светового, химического) у растений снижается доля фосфора сахарофосфатов и т.п.

Примечания к блок-схеме на рис. 27: 

раствор А – содержит Р-легкогидролизируемый = Р-минеральный + Р-сахарофосфатов; раствор В содержит Р-липидов; раствор С содержит Р-нуклеиновых кислот; осадок III содержит Р-протеидов.

Растворы получают последовательным воздействием экстрагентов: *раствор А* – 40 см^3; 3%-го раствора $HClO_4$; *раствор В* – 20 см^3 смеси спирта и эфира, 10 см^3 воды; *раствор С* – 20 см^3 1 н. $HClO_4$; 20 см^3 раствора 0,5 н. $HClO_4$



Рис. 27. Схема последовательного извлечения фосфора из органического вещества растений

Извлечение легкогидролизуемого (кислоторастворимого) фосфора

Навеску 2 – 4 ± 0,002 г измельченного свежего растительного материала или фиксированного жидким азотом, или свежезамороженного берут на аналитических весах с одновременным определением содержания абсолютно сухого вещества в стеклянных бюксах. При анализе сухого материала навеска 0,3 – 0,5 ± 0,001 г.

Приготовление раствора А. Навеску помещают в коническую колбу объемом 100 $см^3$. Для определения фосфора следует использовать колбы градуированные с притертой стеклянной пробкой или обернуть резиновые пробки плотно фольгой. Приливают в колбу 40 $см^3$ 3% раствора хлорной кислоты, перемешивают, взбалтывают на ротаторе 1 час.

Надосадочную жидкость методом декантации переносят в мерную колбу на 200 $см^3$ через бумажный беззольный фильтр. Извлечение повторяют, в том же режиме приливая снова 40 $см^3$ 3% хлорной кислоты в течение 40 мин. Надосадочную жидкость вместе с навеской переносят количественно на бумажный фильтр.

Осадок на фильтре промывают малыми порциями 3% раствора $HClO_4$ 3 – 4 раза. Этот осадок затем используют для определения фосфора липидов и пр. (см. блок-схему на с. 401).

Экстрагент и промывной раствор собирают в колбу. Раствор в колбе перемешивают, доводят до метки дистиллированной водой, снова перемешивают. Раствор А пригоден для определения Р минерального и суммы Р-минерального и Р-органического кислоторастворимого, который в основном представлен фосфором сахарофосфатов.

Определение кислоторастворимого фосфора

Так как часть кислоторастворимого фосфора связана в виде сахарофосфатов необходимо провести озоление органического вещества. В колбу Кьельдаля помещают 25 или 50 $см^3$ раствора А, упаривают объем до 5 – 7 $см^3$ на электроплитке, охлаждают, приливают 5 $см^3$ концентрированной серной кислоты, продолжают озоление до обесцвечивания раствора.

Если процедура сжигания затягивается на 3 – 4 ч, добавляют по стенкам охлажденной колбы Кьельдаля 1 $см^3$ концентрированной хлорной кислоты, продолжают озоление.

Бесцветный, прозрачный раствор охлаждают и количественно переносят в мерную колбу на 100 $см^3$. Для этого в колбу Кьельдаля наливают 10 $см^3$ воды, перемешивают, охлаждают, добавляют 50 $см^3$ горячей дистиллированной воды, активно перемешивают, переносят в мерную колбу на 100 $см^3$. Колбу Кьельдаля многократно споласкивают малыми порциями горячей дистиллированной воды, так как растворы концентрированных кислот плохо отмываются холодной водой. Промывные воды сливают так же в мерную колбу. Раствор в мерной

колбе перемешивают, охлаждают, доводят до метки, снова перемешивают. Раствор используют для определения Р-кислоторастворимого.

Р-кислоторастворимый = Р-мин. + Р-сахарофосфатов

Следовательно, Рсахарофосфатов находят по разности:

% Р-сахарофосфатов = % Р-кислоторастворимого – % Р-минерального.

Определение фосфора минерального

Ход анализа

В мерную колбу на 50 $см^3$ помещают от 5 до 20 $см^3$ раствора А в зависимости от качества растительного материала, доводят объем до ≈ 40 $см^3$ дистиллированной водой, перемешивают, нейтрализуют по каплям 10%-м раствором аммиака по фенолфталеину, каждую каплю перемешивают. Слабо-розовую окраску раствора от избытка аммиака снимают, добавляя в колбу по каплям 1%-й раствор H_2SO_4. Бесцветный раствор имеет pH 8,2. Только при этом значении в растворе образуется комплексная соль молибдата аммония, которая не выпадает в осадок.

Для окрашивания раствора в мерную колбу добавляют 1 $см^3$ сульфатмолибденовой жидкости, перемешивают и приливают 3 капли восстановителя – раствора хлористого олова, снова тщательно перемешивают, доводят раствор до метки.

Раствор окрашивается в сине-голубой цвет. Интенсивность окраски раствора пропорциональна концентрации фосфора в растворе.

В течение 15 мин измеряют оптическую плотность раствора на фотокалориметре при красном светофильтре ($\lambda \approx 650$ нм), кюветы $d = 20$ мм. Таким образом измеряют содержание фосфора и во всех последующих фракциях.

Определение фосфора липидов

Ход анализа

Снимают фильтр с осадком и переносят его на стеклянную воронку с коротким и широким носиком. Воронку вставляют в ту же коническую колбу, разворачивают фильтр и раскладывают его по краю воронки, прижимая фильтр к стеклу. Из промывалки осадок полностью смывают в коническую колбочку смесью растворов (спирт : эфир = 3 : 1), используя 20 $см^3$ экстрагента, перемешивают от руки или стеклянной палочкой, закрывают пробками и оставляют на ночь при комнатной температуре, т.е. около 20°С. После этого надосадочную жидкость методом декантации сливают через стеклянную воронку в колбу Кьельдаля объемом 100 – 150 $см^3$ с широким горлом.

Извлечение фосфолипидов повторяют еще дважды с тем же объемом экстрагента, но с разными временными интервалами, затем осадок промывают водой. Все растворы собирают в колбу Кьельдаля. Делают это так: к осадку приливают 20 $см^3$ смеси спирта и эфира,

перемешивают, закрывают пробками, изредка премешивают вручную в течение 5 – 6 ч, затем сливают надосадочную жидкость в ту же колбу Кьельдаля.

Осадок в третий раз заливают 20 $см^3$ смесью спирт-эфир, перемешивают тщательно, закрывают конические колбы пробками, оставляют на ночь при комнатной температуре. Надосадочную жидкость переносят методом декантации в колбу Кьельдаля.

Затем осадок промывают дистиллированной водой. Для этого приливают в коническую колбу 10 $см^3$ воды, перемешивают, взбалтывают на ротаторе 5 мин. Осадок сохраняют в колбе, а жидкость переносят в колбу Кьельдаля. Экстракт в колбе Кьельдаля, содержащий спирт, эфир, воду и т.д., перемешивают и упаривают содержимое на водяной бане при $t = 80°C$ (появление первых пузырьков) до объема 5 – 7 $см^3$ на дне колбы.

Упаривание растворов, содержащих спирт и эфир, требует особого внимания и осторожности! Нельзя повышать температуру выше указанной! Нагревание раствора должно быть равномерным. Использовать только колбы Кьельдаля с широким горлом.

Содержимое колбы после упаривания охлаждают, доливают 5 $см^3$ концентрированной серной кислоты, перемешивают, закрывают малой воронкой горло колбы или стеклянным затвором. Раствор озоляют до бесцветного состояния на электроплитке. Для ускорения озоления по стенке в охлажденные до комнатной температуры колбы добавляют по каплям концентрированную хлорную кислоту, но не более 1 $см^3$ в сумме.

После окончания озоления содержимое колбы охлаждают, доливают 10 $см^3$ дистиллированной воды, перемешивают, добавляют 50 $см^3$ горячей воды. Раствор количественно переносят в мерную колбу на 100 $см^3$. Колбу Кьельдаля споласкивают малыми порциями горячей воды, эти воды собирают в мерную колбу, доводят содержимое до метки, перемешивают. Это *раствор В*, который используют для колориметрического определения Р-липидов.

Определение фосфора нуклеиновых кислот

Ход анализа

Осадок в конической колбе после извлечения фосфолипидов обрабатывают 20 $см^3$ 1 н. хлорной кислоты, тщательно перемешивают, закрывают плотно пробками (только стеклянными или обернутыми фольгой резиновыми) и ставим колбы в холодильник в конце рабочего дня на 17 часов при $t = 3°C$.

После этого колбы встряхивают, перемешивают вручную, открывают пробки. Надосадочную жидкость методом декантации переносят в колбы Кьельдаля на 100 – 150 $см^3$ через стеклянную воронку без фильтра.

Осадок еще дважды обрабатывают хлорной кислотой для полноты извлечения фосфора нуклеиновых кислот. Для этого приливают к осадку 20 $см^3$ 1 н. хлорной кислоты, перемешивают стеклянной палочкой с

оплавленным концом, ставят на водяную баню, предварительно нагретую до 70°С на 30 мин, декантируют охлажденный раствор в колбу Кьельдаля. Повторяют извлечение снова, используя 0,5 н. $HClO_4$ в количестве 20 $см^3$, перемешивают, нагревают на водяной бане 30 мин t = 70°С. Экстрагент собирают в ту же колбу Кьельдаля.

После повторной экстракции на водяной бане осадок из колбы количественно переносят на бумажный фильтр, вложенный в стеклянную воронку и фильтруют содержимое в колбу Кьельдаля. Осадок на фильтре 3 – 4 раза промывают 3%-й хлорной кислотой очень малыми порциями, которые собирают в ту же колбу Кьельдаля. Это будет *раствор С*, который содержит *Р-нуклеиновых кислот*.

Промытый осадок используют для определения *Р-протеидов*. Для фильтрования раствора необходимо использовать бумажные фильтры малого диаметра, так как большие фильтры сильно удлиняют время озоления.

Раствор в колбе Кьельдаля упаривают на электронагревателе до объема 5 – 7 $см^3$, охлаждают, затем приливают 7 – 10 $см^3$ концентрированной серной кислоты. Если при сжигании осадок долго не осветляется, по каплям добавляют немного концентрированной хлорной кислоты.

Раствор из колбы Кьельдаля количественно переносят через стеклянную воронку без фильтра в мерную колбу объемом 100 $см^3$, ополаскивая многократно колбу Кьельдаля малыми порциями горячей воды, охлаждают, доводят до метки и перемешивают. Раствор употребляют для определения фосфора нуклеиновых кислот колориметрическим методом, как описано выше.

Определение фосфора протеидов

Ход анализа

После извлечения фосфора нуклеиновых кислот промытый осадок растительного материала на фильтре вынимают на часовое стекло, подсушивают при t = 60 – 70°С до слабовлажного состояния.

Сворачивают «бумажную сигарету», закрывают вручную верхний и нижний конец и опускают патрон с осадком в горло колбы Кьельдаля. Используя стеклянную палочку, патрон опускают на дно колбы, приливают 7–10–12 $см^3$ концентрированной серной кислоты. Перемешивают, ставят на ночь в лоток.

Озоление материала идет первоначально при комнатной температуре в течение 10 – 12 ч. Затем осторожно, не допуская бурного кипения, нагревают колбу на электроплитке с асбестом. Сначала наблюдается вспучивание органической массы. Надо снять колбу с огня, перемешать содержимое круговым движением. Сжигать медленно до тех пор, пока масса не превратится в однородную буро-коричневую жидкость.

Ускорить озоление можно добавлением после охлаждения колбы концентрированной хлорной кислоты. Для этого раствор в колбе

Кьельдаля сжигают до слабого осветления окраски, охлаждают и приливают по стенке колбы по каплям 1 $см^3$ концентрированной хлорной кислоты.

Продолжают озоление до получения бесцветного прозрачного раствора. Раствор из колбы Кьельдаля количественно переносят в мерную колбу на 100 $см^3$. Определяют содержание фосфора белков колориметрически, как указано выше.

Таким образом, в результате фракционирования получаем следующие показатели содержания фосфора в растительной массе: общий, минеральный, *Р-сахарофосфатов, Р-липидов, Р-нуклеиновых кислот, Р-протеидов.*

Фракционирование фосфора считается выполненным правильно, если сумма фракций фосфора (в %) составляет ≈ 90 – 92% от содержания общего фосфора в пробе.

Примечание

- ♦ При работе по фракционированию фосфатов пользоваться только беззольными фильтрами.
- ♦ Если фильтрование осадка методом декантации идет трудно, и растительная масса из колбы «плывет» в экстрактивный раствор, следует использовать фильтрование через бумажный фильтр и стеклянную воронку с коротким и широким отростком с последующим развертыванием фильтра и смыванием осадка с фильтра из промывалки в ту же коническую колбу.
- ♦ Необходимо использовать концентрированные серную и хлорную кислоты очищенные от фосфора.

Содержание фосфора каждой фракции (P_2O_5) определяют по формуле:

$$P_2O_5\,[\%] = \frac{a \cdot V \cdot 100}{H \cdot V_1 \cdot 1000},$$

где a – содержание фосфора мг/$см^3$ по графику; V – общий объем раствора, $см^3$; V_1 – объем раствора, взятый для окрашивания, $см^3$; 100 – для выражения данных в процентах; 1000 – для приведения мг в г; H – навеска органического вещества, г.

Форма записи

№ образца	Навеска, г	Объем экстракта $см^3$	V – объем взятый на озоление, $см^3$	V_1 – объем взятый на окрашивание, $см^3$	Показания ФЭКа	% фосфора

Реактивы:

1. 3%-я хлорная кислота $HClO_4$: готовиться из 32,4 $см^3$ 57%-й концентрированной кислоты на 1 $дм^3$ раствора.
2. 1 н. хлорная кислота; 100 $см^3$ кислоты на 1 $дм^3$ раствора.
3. 0,5 н. хлорная кислота: 50 $см^3$ концентрированной кислоты на 1 $дм^3$ раствора.
4. Смесь спирта и эфира: этиловый спирт 92°-й и этиловый эфир 80%-й, в соотношении 3 части спирта и 1 часть эфира по объему, перемешивают.

Определение общего фосфора в растениях после озоления

Ход анализа

После мокрого озоления растительного материала по методу Гинзбург (стр. 355–356) из мерной колбы на 100 см^3 (ориентировочное окрашивание проводят с одной колбой, взяв 5 см^3 раствора) берут 5 – 10 см^3 испытуемого раствора в мерную колбу объёмом 50 см^3. Приливают 20 – 25 см^3 дистиллированной воды.

Нейтрализуют раствор (под тягой, в специально отведённой комнате для работы с аммиаком) 10%-м раствором аммиака до слабо-розовой окраски по фенолфталеину, снимают окраску добавлением нескольких капель 1%-го раствора серной кислоты. Вносят пипеткой 1 см^3 раствора молибденовокислого аммония, хорошо взбалтывают. Добавляют 3 капли раствора хлористого олова, снова тщательно взбалтывают, доводят до метки дистиллированной водой.

Через 10 – 15 мин колориметрируют при тех же условиях, при которых строился калибровочный график.

Расчёт

$$P_2O_5\,[\%] = \frac{a \cdot P \cdot 100}{H \cdot 1000},$$

где a – мг P_2O_5 по графику; 100 – коэффициент для выражения данных в процентах; P – разведение; 1000 – коэффициент для перевода $г$ навески в $мг$, т.е. для приведения данных к одним единицам; H – навеска воздушно-сухого вещества, г.

Форма записи

Вариант опыта	№ колбы	Разведение	Отсчёт по ФЭКу	P_2O_5, мг по графику	P_2O_5,%

Реактивы и построение калибровочного графика см. на с. 166 – 168.

Определение содержания калия в растениях пламенно-фотометрическим методом

Калий в растениях выполняет ряд важных физиологических функций: способствует передвижению продуктов ассимиляции, повышает поглощение азота и синтез белков, полимеризацию углеводов, повышает гидрофильность протоплазмы, что увеличивает устойчивость растений к температурным и водным стрессам. Калий повышает устойчивость растений к грибным заболеваниям и улучшает технологические показатели лубяных культур.

Большое количество калия из почвы потребляют корнеплоды: картофель, сахарная свекла, кормовые корнеплоды. Много калия содержится в луговых травах и в соломе зерновых культур. Содержание калия в зерне отличается постоянством и составляет 0,6 – 0,8%,

содержание в соломе зависит от агротехники, вида зерновой культуры и изменяется в широких пределах от 2 до 6%.

В настоящее время для определения калия в растениях используют метод пламенной фотометрии, который дает надежные и устойчивые результаты. Мокрое озоление растительного материала полностью исключает потери этого элемента. Результат определения после сухого озоления зависит от тщательности аналитика, и не исключены потери калия в виде K_2O при высокой температуре озоления.

Ход анализа

Раствор золы после мокрого или сухого озоления помещают в химический стакан емкостью 50 $см^3$ и вводят в засасывающее устройство пламенного фотометра. При введении растворов, содержащих калий, пламя окрашивается в желтый цвет. В течение ≈ 30 с устанавливается стрелка прибора, показания снимают по амперметру и записывают.

Содержание калия в анализируемом растворе находят по калибровочной кривой. Интенсивность светового потока пламенного фотометра пропорциональна содержанию атомов калия в растворе. Чувствительность метода зависит от прибора, но она не менее 0,01 мкг K_2O на 1$см^3$.

Построение калибровочной кривой. Серию образцовых растворов сравнения для построения калибровочной кривой готовят путем разбавления основного раствора KCl («х.ч.»), содержащего K_2O 1 мг/$см^3$. Образцовые растворы сравнения вводят по возрастающей концентрации в засасывающее устройство пламенного фотометра и записывают показания прибора, соответствующие концентрации. По результатам фотометрирования растворов сравнения строят *градуировочный график*. По оси абсцисс откладывают концентрации калия в растворах сравнения в мг/$см^3$, а по оси ординат – соответствующие им показания пламенного фотометра.

Расчёт

Содержание K_2O (в %) рассчитывают по формуле

$$K_2O\,[\%] = \frac{a \cdot V \cdot 100}{H \cdot 1000},$$

где: a – K_2O мг/ по графику; V – объем исследуемого раствора, $см^3$; 100 – коэффициент для выражения данных в процентах; 1000 – коэффициент для перевода *г* навески в *мг*, т.е. для приведения данных к одним единицам; H – навеска воздушно-сухого вещества, г.

Если концентрация исследуемого раствора выше приведенной на графике и прибор «зашкаливает», необходимо сделать соответствующее разведение. Для этого берут пипеткой 10 – 20 $см^3$ испытуемого раствора в мерную колбу на 50 $см^3$, доливают до метки дистиллированной водой и проводят определение. Разведение учитывают при расчете результатов.

Форма записи

№ образца	V – объем р-ра	Разведение	Отсчёт по ФЭКу	K_2O, мг по графику	K_2O, %

Реактивы

1. Раствор KCl, содержащий K_2O 1 мг/см^3: 1,5826 г KCl («х.ч.») перекристаллизованного растворяют в дистиллированной воде в мерной колбе на 1000 см^3, перемешивают, доводят до метки и снова тщательно перемешивают.

2. Серия образцовых растворов: в десять мерных колб емкостью 50 см^3 приливают по ≈ 20 см^3 дистиллированной воды и последовательно добавляют 0,2; 0,4; …; 0,8; 1,0 см^3 раствора KCl, содержащего K_2O 1 мг/см^3. Перемешивают, доводят до метки дистиллированной водой.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОБЩЕЙ СЕРЫ

Сера широко распространена в растительном мире. Поступив в растение в виде солей серной кислоты, она частично восстанавливается до S или SH. В таком виде сера может накапливаться в запасных органах в виде белков или масел. При прорастании семян снова окисляется до SO_4^{2-} и в таком виде используется в синтезе новых веществ. Содержание серы от 0,5 до 10 г на 1 кг сухого вещества. Более высоким содержанием серы отличаются листья и семена растений, значительно меньше ее в корнях и стеблях. Высоким содержанием серы отличаются крестоцветные, которые содержат серу в виде горчичного и чесночного масел. В растениях сера находится в минеральной и органической форме, минеральная часть представлена гипсом и солями серной кислоты, а органическая сера входит в состав серосодержащих аминокислот: метионина, цистина и цистеина; ферредоксина, глутатиона, кофермента А и линолевой кислоты. Этот элемент присутствует в них в виде сульфгидрильных (*–S–H*) и дисульфидных *(–S–S–)* группировок.

Растения с большим содержанием белка обычно содержат больше и серы, например, зернобобовые культуры.

Небольшие потери серы возможны при высушивании растительного материала даже при комнатной температуре. Растения, содержащие горчичные масла, теряют много серы в виде летучих форм при высушивании при температуре 100°С.

Органы и растения с высоким содержанием воды и горчичных масел анализируют в свежем нефиксированном виде, все другие образцы анализируют в воздушно-сухом состоянии.

При определении серы очень важно провести озоление без потерь и избежать улетучивания соединений серы, для этого необходимы два условия: более низкая температура озоления, чем принято обычно, и сжигание в закрытом объеме. В настоящем руководстве предлагается весовой метод определения общей серы.

Весовой метод определения серы

Принцип метода. Проводят озоление сухого растительного материала в полузакрытом объеме концентрированной азотной кислотой с катализатором. Освобождаются фильтрованием от кремниевой кислоты. Осаждают серу из кислого раствора хлористым барием. Сера выпадает в осадок в виде $BaSO_4$, осадок промывают спиртом и эфиром, высушивают, взвешивают.

Ход анализа

1 г воздушно-сухого вещества помещают в колбу Кьельдаля с узким длинным горлом. К колбе присоединяют прямой обратный холодильник, соединение на шлифах. В колбу приливают 15 – 20 $см^3$ концентрированной азотной кислоты, смывая с горла колбы остатки органического вещества. Первоначальное озоление ведут при комнатной температуре. Для этого навеску, залитую кислотой, оставляют на ночь в смонтированном аппарате. Затем приступают к озолению с подогревом, используя газовую горелку или электронагревательные приборы.

Следует избегать бурного кипения и сильного разогрева кислоты. Выделяющиеся водород и углекислый газ сильно вспенивают навеску. Необходимо так регулировать подогрев, чтобы из верхнего отростка холодильника почти не выходили окислы азота, это гарантирует от потери SO_4.

Бурная реакция озоления наблюдается только первый час, а затем, при правильном нагреве, она переходит в равномерное кипение раствора. Когда прекратится выделение окислов азота, через верхний отросток холодильника в колбу Кьельдаля добавляют несколько капель H_2O_2, это ускоряет озоление, можно также добавить (периодически) $KClO_3$ в порошке.

Избытка азотной кислоты в колбе следует избегать, так как это удлиняет процесс озоления. Если к концу озоления азотной кислоты в колбе останется мало, то следует добавить несколько $см^3$ кислоты через верхний конец холодильника. Озоление считается законченным, если раствор в колбе стал бесцветным и прозрачным. Обычно озоление заканчивается за 4 – 5 ч.

Отсоединяют колбу Кьельдаля и ее содержимое разбавляют горячей дистиллированной водой, затем фильтруют через беззольный фильтр в мерную колбу на 250 $см^3$. Фильтрат нейтрализуют щелочью по метилу оранжевому и доводят водой до метки. Фильтрат должен быть совершенно прозрачным (на фильтре остается кремниевая кислота).

Две порции фильтрата по 50 $см^3$ берут в химические стаканы и их содержимое упаривают до 2/3 первоначального объема. К раствору, имеющему нейтральную или щелочную реакцию, добавляют 2 – 3 капли индикатора метила оранжевого и порциями доливают концентрирован-

ную соляную кислоту до перехода окраски в красно-оранжевую, после этого добавляют еще 1 $см^3$ концентрированной соляной кислоты.

Готовят осадитель, для этого 2 г хлористого бария растворяют в 50 $см^3$ горячей дистиллированной воды. Испытуемый раствор нагревают до кипения и медленно, по каплям, вливают горячий раствор осадителя (20 – 25 $см^3$). При осаждении раствор непрерывно медленно перемешивают стеклянной палочкой. Стакан с осадком закрывают часовым стеклом и ставят для созревания осадка на ночь. Проверяют полноту осаждения. Для этого в стакан добавляют 2 – 3 капли осадителя, если фильтрат остается прозрачным, приступают к фильтрованию.

Раствор фильтруют через стеклянный фильтр или тигель Гуча, доведенные до постоянного веса. Осадок многократно промывают небольшими порциями (10 $см^3$) спирта и эфира. Фильтруют с водоструйным насосом. Осадок осушают воздухом для удаления запаха эфира. Тигли или стеклянные фильтры с осадками помещают в вакуум-эксикатор или в сушильный шкаф и при t = 105°С доводят до постоянного веса.

Расчет результатов:

$$\%\, S = \frac{(a - в) \cdot V \cdot 100 \cdot 0{,}137}{H \cdot V_1 \cdot 1000},$$

где a – вес тигля с осадком $BaSO_4$, г, $в$ – вес тигля, г, V – общий объем фильтрата, $см^3$, V_1 – объем раствора, взятый в стакан, $см^3$, H – навеска вещества для озоления, г, $0{,}137$ – коэффициент пересчета $BaSO_4$ на серу, можно использовать другой коэффициент 0,411 для перевода на SO_4^{2-}.

Реактивы:

1. Азотная кислота (конц.).
2. H_2O_2 30%-я.
3. $KClO_3$ порошок.
4. 4%-й раствор хлористого бария.
5. Метиловый оранжевый индикатор.
6. Спирт этиловый.
7. Эфир для промывки осадка.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ УГЛЕВОДОВ В РАСТЕНИЯХ

Углеводы являются основным продуктом фотосинтеза, на их основе в процессе обмена веществ в растительном организме формируются белки, жиры, нуклеиновые кислоты и другие соединения. Углеводы – основной источник для аэробного и анаэробного дыхания клеток; источник энергии для возобновления вегетации. Обычно растение содержит большой набор разнообразных углеводов. В процессе вегетации соотношение растворимых и нерастворимых форм изменяется. В молодых растениях преобладают моно- и дисахариды, в период созревания увеличивается содержание крахмала, целлюлозы, т.е. нерастворимых форм.

Содержание углеводов и их разнообразие определяются видом растения, фазой развития и абиотическими факторами среды и изменяются в широких пределах. Например, зерно пшеницы содержит 3% растворимых углеводов и 70% крахмала, в свекле 20% растворимых углеводов (сахарозы), в картофеле 20% крахмала, а волокно хлопчатника на 90% состоит из целлюлозы.

Определение углеводов в растительной продукции позволяет: а) установить закономерности обмена этих веществ при формировании урожая, при созревании и хранении продукции; б) оценить качество плодов, овощей, зеленой массы и возможность их технической переработки, например у сахарной свеклы, картофеля и др.; в) в здравоохранении составить энергетический баланс, в зоотехнии рассчитать пищевой рацион.

Принята следующая классификация углеводов:



Моносахариды состоят из одной молекулы углевода, хорошо растворимы в воде.

Полисахариды 1-го порядка состоят из двух, а раффиноза из трех молекул моносахаридов, соединенных между собой «кислородным мостиком» (связь –О–), хорошо растворимы в воде.

Полисахариды 2-го порядка состоят из нескольких тысяч молекул моносахаридов, в основном глюкозы, соединенных между собой кислородными мостиками. Упаковка молекул осуществляется в виде циклических цепей, например инулин, в виде ветвистой структуры – крахмал, мицелляльных нитей – клетчатка. Клетчатка нерастворима в воде, крахмал дает коллоидные растворы. Эти углеводы обеспечивают механическую прочность клеточных стенок и многих органов растений, формируют покровные ткани, обеспечивают стабильность биохимического состава при обмене веществ в растениях и хранении продукции.

Существуют количественные методы определения моносахаридов: химические, поляриметрические. Определение полисахаридов в растениях осуществляется теми же методами, но прежде кислородная связь (–О–) этих соединений разрушается в процессе кислотного гидролиза, а в почве

этот процесс идет медленно за счет гидролитических ферментов почвы или почвенной биоты.

Определение углеводов по методу Бертрана

Принцип метода. Растворимые углеводы извлекаются из растительного материала горячей дистиллированной водой. В одной части фильтрата определяют моносахариды, в другой – после гидролиза соляной кислотой ди- и трисахариды, которые распадаются при этом до глюкозы. Полученная в растворе смесь простых углеводов называется «инвертированным сахаром».

Метод определения основан на способности моносахаридов, содержащих альдегидную или кетонную группу, восстанавливать фелингову жидкость.

Последняя представляет собой смесь 1:1 щелочного раствора сегнетовой соли (калий, натрий виннокислый) и сернокислой меди. При этом моносахариды окисляются до соответствующих кислот, а окись меди восстанавливается до закиси меди, которая выпадает в осадок красно-бурого цвета. Количество осадка эквивалентно количеству углеводов.

Полисахариды не имеют альдегидных или кетонных группировок, поэтому их количественное определение возможно только после кислотного гидролиза до моносахаридов. Сахароза после гидролиза образует молекулу глюкозы и фруктозы, а крахмал распадается на несколько сотен молекул глюкозы.

При смешивании раствора сернокислой меди и щелочного раствора сегнетовой соли идут реакции:

$$CuSO_4 + 2\,NaOH = Cu(OH)_2 + Na_2SO_4$$

$$Cu(OH)_2 + \begin{matrix} H \\ OH-C- \\ | \\ OH-C- \\ H \end{matrix} \begin{matrix} COONa \\ \\ COOK \end{matrix} \rightarrow \left(\begin{matrix} H \\ O-C- \\ \\ O-C- \\ H \end{matrix} \begin{matrix} COONa \\ \\ COOK \end{matrix} \right) Cu$$

медный алкоголят сегнетовой соли

Таким образом получают комплексное соединение окиси меди, которая находится в растворе. Если в этот раствор добавить испытуемый раствор моносахаридов, окись меди восстанавливается до закиси меди, которая выпадает в осадок красно-бурого цвета.

$$[CuO] + CH_2OH(CHOH)_4C\begin{matrix} O \\ H \end{matrix} + H_2O \Rightarrow Cu_2O + CH_2OH(CHOH)_4COOH$$

глюкоза — *закисная медь* — *глюконовая кислота*

Осадок закисной меди учитывается объемным методом. На асбестовом фильтре в трубке Аллена осадок растворяют сернокислым раствором железоаммиачных квасцов:

$$Cu_2O + 2Fe_2(SO_4)_3 + H_2SO_4 = 2\,CuSO_4 + 2Fe\,SO_4 + H_2O.$$

Железо из трехвалентного переходит в двухвалентное, которое затем оттитровывают раствором $KMnO_4$ точно известной нормальности.

Количество перманганата эквивалентно количеству меди, которая выпала в осадок. Рассчитывают осадок меди в мг, а затем по специальным таблицам Бертрана находят соответствующее количество глюкозы в мг.

Ход анализа.

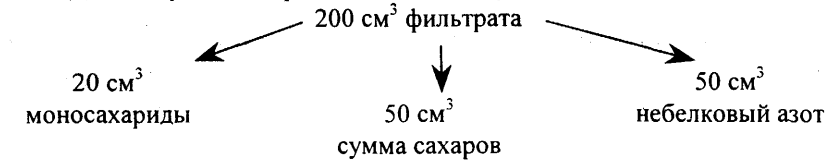
На аналитических весах берут навеску воздушно-сухого растительного материала массой 1±0,001 г в химический стакан на 150 – 200 см^3. Приливают цилиндром 125 см^3 горячей дистилированной воды и ставят на водяную баню, предварительно нагретую до 80°С. Одновременно ставят контрольный стакан с водой, в него погружают термометр.

Экстрагируют углеводы в течении 30 мин при температуре 75 – 80°С, периодически перемешивая стеклянной палочкой с резиновым наконечником. Палочка всегда находится в стакане. Охлаждают суспензию до комнатной температуры и осаждают белки. Для этого в надосадочную жидкость по каплям приливают раствор уксуснокислого свинца. Каждую каплю энергично размешивают. На осаждение белков расходуется около 0,5 см^3 осадителя в зависимости от качества анализируемого материала. Учитывают общее количество осадителя в каплях или в см^3. Нельзя допустить недостаток или избыток свинца. Полное осаждение или созревание осадка белка проходит в течение 4 часов, лучше осадок оставить на ночь.

Возможный избыток уксуснокислого свинца осадить 10%-м раствором Na_2SO_4, прибавив его в тройном количестве по отношению к израсходованному раствору свинца. Тщательно перемешать суспензию в стакане. Оставить для созревания осадка.

Фильтруют суспензию через бумажный складчатый рыхлый фильтр и стеклянную воронку диаметром 8–10 см в мерную колбу на 200 см^3. Осадок полностью переносят на фильтр, промывают содержимое стакана и осадок на фильтре малыми порциями горячей дистиллированной воды. Охлаждают раствор, перемешивают, доводят до метки и снова тщательно перемешивают. Фильтрат прозрачный, окраска от слабо-желтой до соломенно-желтой за счет растительных пигментов.

Для следующих определений используются объемы:



Определение моносахаридов

Ход анализа

В коническую колбу Эрленмейера на 100 см^3 с узким горлом вносят пипеткой 20 см^3 раствора $CuSO_4$, добавляют 20 см^3 раствора сегнетовой соли, хорошо перемешивают. Добавляют в колбу 20 см^3 испытуемого раствора углеводов, перемешивают.

♦ *Последовательность внесения растворов и их соотношение не меняют!*

Ставят на горелку с асбестовой сеткой или электроплитку, нагревают смесь, кипятят при слабом кипении 3 мин по песочным часам. На дне колбы образуется красно-бурый осадок закиси меди.

Фильтруют раствор в горячем состоянии через асбестовый фильтр, помещенный в трубку Аллена, в большую колбу Бунзена с помощью водоструйного или вакуумного насоса.

Промывают осадок закисной меди 7 – 8 раз малыми порциями горячей дистиллированной воды и количественно переносят его на фильтр.

♦ *Осадок на фильтре должен быть покрыт водой, на воздухе не оставляют!*

Осадок, промытый, с трубкой Аллена переносят на малую, приблизительно 250 см^3, чистую колбу Бунзена. Растворяют осадок в трубке при выключенном насосе железоаммиачными квасцами (около 10 –15 см^3), приливая их в коническую колбу, так как там могут быть следы закиси меди, а затем выливают в трубку. Осторожно растворяют осадок с помощью малой стеклянной палочки. Содержимое трубки промывают 5 – 6 раз малыми порциями горячей воды при включенном насосе.

Раствор и промывные воды в малой колбе Бунзена не охлаждая, осторожно, при слабом перемешивании титруют раствором перманганата 0,02 или 0,05 н. до слабо-розовой окраски.

Расчет

1 см^3 0,1 н. $KMnO_4$ соответствует *6,36 мг* Cu.

a см^3 · N_X $KMnO_4$ соответствует *X мг* Cu

где *a* – объем перманганата (см^3), пошедшего на титрование; *X* – количество меди в осадке (мг).

По таблицам Бертрана находим:

X Cu соответствует *a (мг)* глюкозы, а далее:

$$\textit{Содержание моносахаров [\%]} = \frac{a \cdot P \cdot 100}{H \cdot 1000},$$

где: *a* – мг глюкозы по таблицам Бертрана (см. ПРИЛОЖЕНИЕ, табл. 25); *P* – разведение 200/20; *H* – навеска воздушно-сухого вещества, г; *1000* – пересчет мг в г.

Определение суммы сахаров растворимых углеводов

Ход анализа

Берут 50 см^3 фильтрата в мерную колбу на 100 см^3, приливают цилиндром 5 см^3 концентрированной HCl и ставят на водяную баню, предварительно нагретую до 80°С.

В контрольную колбу налить 50 см^3 воды и 5 см^3 кислоты, опускают термометр, ставят на баню.

Гидролиз сахаров проводят в бане при постоянном помешивании при температуре 68 – 70° С в течение 5 мин. по песочным часам.

Охлаждают раствор, добавляют 2–3 капли фенолфталеина, далее нейтрализуют его малыми порциями сухой соды, используя объем 100 мг на кончике скальпеля (до слабо-розовой окраски). Каждую порцию соды тщательно перемешивают круговым движением колбы не отрывая ее донышко от стола. Не допускать бурного вспенивания раствора. Доводят раствор до метки водой, тщательно перемешивают.

Используют раствор для определения суммы сахаров. Так как в растворе после гидролиза находятся только моносахариды, определение ведут по методике, изложенной выше.

$$\textit{Содержание суммы сахаров [\%]} = \frac{B \cdot P \cdot 100}{H \cdot 1000},$$

где B – мг глюкозы по табл. Бертрана (см. ПРИЛОЖЕНИЕ, табл. 25); P – разведение P = (200 · 100)/(50 · 20); H – навеска воздушно-сухого материала, г.

Далее можно рассчитать содержание непосредственно дисахаридов:

$$\textit{\% дисахаридов} = (\textit{\% суммы сахаров} - \textit{\% моносахаридов}) \cdot 0{,}95$$

(*0,95* – поправочный коэффициент, так как одна молекула сахарозы дает при гидролизе 0,95 молекулы глюкозы).

Определение небелкового азота и углеводов из одной навески

Суммарное количество небелкового азота в растительном материале удобно определять из одной навески с углеводами. При таком ходе анализа обеспечивается достаточно высокая точность определения.

Ход анализа

50 см^3 фильтрата помещают в колбу Кьельдаля с широким горлом, упаривают до 5–7 см^3 на электроплитке, охлаждают. Приливают в колбу Кьельдаля 7 см^3 концентрированной серной кислоты и озоляют раствор до бесцветного состояния. Обычно катализатор не добавляют.

Содержимое колбы Кьельдаля количественно переносят в отгонный аппарат и проводят определение на микрокьельдале или переносят в

соответствующую мерную колбу и проводят колориметрическое определение аммиачного азота с реактивом Несслера (см. с. 151 – 153).

Реактивы.

1. 4%-й раствор $(CH_3COO)_2Pb$.
2. 10%-й раствор Na_2SO_4.
3. HCl концентрированная ($d = 1{,}12$).
4. Натрий углекислый (сода) $Na_2CO_3 \cdot H_2O$.
5. Фенолфталеин.
6. 4%-й раствор $CuSO_4$.
7. Щелочной раствор сегнетовой соли $C_4H_4O_6KNa \cdot 4H_2O$: 200 г «х.ч.» соли переносят в мерную колбу на 1 дм^3, приливают ~ 300 см^3 воды, добавляют 150 см^3 «х.ч.» KOH или NaOH, доводят до метки. Отфильтровывают раствор через трубку Алена или стеклянный тигель-фильтр № 3 или № 4.
8. Раствор железоаммиачных квасцов, подкисленный серной кислотой $(NH_4)_2SO_4 \cdot Fe_2(SO_4)_3 \cdot 24H_2O$: 81 г квасцов переносят в мерную колбу на 1 дм^3, растворяют в ~ 500 см^3 воды, осторожно добавляют 108,7 см^3 концентрированной серной кислоты, доводят до метки. Или вместо квасцов берут 50 г $Fe_2(SO_4)_3 \cdot n\,H_2O$.
9. Раствор $KMnO_4$ 0,02 н. готовят из фиксанала.

Определение растворимых углеводов фотометрически с пикриновой кислотой (модификация Соловьева)

Моносахариды, имеющие альдегидную или кетонную группировку, могут восстанавливать динитросоединения, при этом образуются интенсивно окрашенные соединения. Окраска пропорциональна количеству углеводов в реакции, поэтому возможно их колориметрическое определение.

Используют реакцию восстановления пикриновой кислоты (2,4,6-тринитрофенола) в пикраминовую.



окраска желтая ***окраска красная***

Таким методом можно определять глюкозу, фруктозу, маннозу, галактозу, ксилозу, арабинозу. Дисахариды – сахароза, целлобиоза, лактоза, мальтоза – определяют после кислотного гидролиза; определение крахмала и некоторых других полисахаридов можно проводить после слабого кислотного гидролиза.

Ход работы

Для экстракции растворимых углеводов берут навеску воздушно-сухого растительного материала массой 0,1 – 0,5 ± 0,0001 г. Переносят в стакан емкостью 100 см^3 и заливают 50 см^3 дистиллированной воды. Содержимое стакана тщательно перемешивают стеклянной палочкой и ставят на водяную баню. Если материал не содержит крахмала, то экстракцию углеводов ведут в течение 30 мин при 70°С. При наличии крахмала (зерно, клубни) экстракцию ведут при 40 – 50°С в течение 1 ч.

После экстракции углеводов проводят в растворе осаждение белков. Полного осаждения белков для определения углеводов не требуется, но необходимо, чтобы раствор не содержал опалесцирующих компонентов. Для этого при анализе зерна и зеленых частей растений в стакан с экстрактом углеводов приливают 0,7 см^3 10%-го уксуснокислого свинца, при анализе корнеклубнеплодов – 0,3–0,4 см^3 10%-го уксуснокислого свинца, тщательно перемешивают и оставляют на 20 мин для созревания осадка.

Фильтруют раствор через сухой фильтр средней плотности в мерную колбу на 100 см^3, можно фильтровать в колбы на 200 см^3, если ожидается высокое содержание углеводов.

Определение моносахаридов

Ход анализа

В сухие химические пробирки емкостью 20 – 40 см^3 берут микропипеткой 1–3 см^3 фильтрата, содержащего от 0,2 до 0,3 мг редуцирующих сахаров. Если количество фильтрата менее 3 см^3, то до этого объема доводят дистиллированной водой.

В пробирку прилить 3 см^3 пикриновой кислоты и 3 см^3 20%-го раствора соды (соотношение компонентов 1:1:1), закрыть пробкой, тщательно перемешать.

Открывают пробку и ставят пробирку на кипящую водяную баню на 30 мин. Уровень воды должен быть не ниже 2/3 высоты объема смеси в пробирках. Для установки пробирок на баню используют пластмассовый или металлический штатив.

Через 30 мин пробирки вынимают и охлаждают. Затем содержимое пробирок через воронку без фильтра переносят в мерные колбы на 50 см^3, ополаскивая несколько раз пробирки дистиллированной водой. Содержимое колбочек доводят до метки дистиллированной водой, раствор перемешивают и колориметрируют при 490 нм.

Холостое определение проводят одновременно. В стакан на 100 см^3 приливают 50 см^3 дистиллированной воды, добавляют в него 0,7 см^3 уксуснокислого свинца.

Содержимое стакана переносят в мерную колбу на 100 см^3, доводят до метки. Из колбы берут 3 см^3 раствора в пробирку, прибавляют 3 см^3

пикриновой кислоты и 3 см^3 20%-го раствора соды, перемешивают, выдерживают 30 мин в кипящей водяной бане. Охлаждают и переносят в мерную колбу на 50 см^3.

Раствор, полученный таким образом, используют как раствор сравнения при колориметрировании.

Расчет

$$Содержание\ моносахаридов\ [\%] = \frac{C \cdot P \cdot 100}{H \cdot 1000},$$

где C – количество глюкозы по графику, мг; P – разведение (100/3);
H – навеска воздушно-сухого материала, г.

Определение суммы сахаров

Ход анализа

В сухие пробирки микропипеткой берут по 1 см^3 фильтрата и прибавляют 0,5 см^3 10%-го раствора HCl. Ставят штативы в кипящую водяную баню на 5 мин. для гидролиза дисахаров.

После гидролиза содержимое пробирок охлаждают, прибавляют 0,5 см^3 20%-го раствора соды для нейтрализации соляной кислоты. Добавляют в пробирку 3 см^3 пикриновой кислоты, перемешивают, приливают 3 см^3 20%-го раствора соды, тщательно перемешивают.

Ставят пробирку в кипящую водяную баню на 30 мин., охлаждают. Через воронку без фильтра переносят в мерную колбу на 50 см^3. Проводят колориметрическое определение моносахаридов.

Сумма сахаров рассчитывается по формуле приведенной выше.

Количество дисахаров определяется по разнице:

$$дисахара\ \% = (\%\ сахаров - \%\ моносахаров)\ 0{,}95$$

(*0,95* – коэффициент пересчета глюкозы в дисахара).

Приготовление шкалы стандартных растворов

1 г просушенной в течение 2 ч при температуре 60–70°С глюкозы растворяем в 1 дм^3 дистиллированной воды. Для построения графика набирают в пробирки 0.2; 0.4; 0.6; 0.8; 1.0; 1.2; 1.4; 1.6; 1.8; 2.0; 2.2; 2.4; 2.6 см^3 стандартного раствора, доводят до 3 см^3 водой и далее поступают так же, как и в случае определения моносахаридов. При построении графика и при определении углеводов сравнение ведут по раствору, содержащему все реактивы, прибавляемые к 3 см^3 воды.

Реактивы

1. Насыщенный раствор пикриновой кислоты: 20 – 30 г пикриновой кислоты заливают примерно 500 см^3 воды. Тщательно перемешивают в течение 5 – 10 мин. Для работы из этого объема отфильтровывают необходимое количество надосадочной жидкости, а в исходный раствор периодически доливают воды до тех пор, пока на дне есть осадок. Раствор в склянке из темного стекла может храниться неопределенно долго.

2. 20%-й раствор соды (Na_2CO_3). После растворения соды раствор необходимо профильтровать. 200 г соды растворяют в 800 $см^3$ дистиллированной воды.

3. 10%-й раствор HCl. 236.8 $см^3$ концентрированной HCl (d = 1,19) вливают в мерную колбу объемом 1 $дм^3$, предварительно налив туда 500 $см^3$ воды, доводят до метки.

Поляриметрическое определение сахара в сахарной свекле

Метод может быть использован для растительной продукции с высоким содержанием сахара.

Ход анализа

Из измельченной репрезентативной пробы корнеплодов сахарной свеклы (мезги) берут навеску (25–30 г) в фарфоровую или специальную металлическую чашку.

При помощи стеклянной палочки навеску без потерь переносят в мерную колбу объемом 200 $см^3$ или специальную колбу Штифта. Фарфоровую чашку и стеклянную палочку многократно обмывают в ту же колбу, заполняя ее объем до 3/4.

Для осаждения белковых веществ в колбу добавляют 7 $см^3$ 10%-го раствора уксуснокислого свинца. Затем колбу с раствором помещают на 30 мин на водяную баню при 80°С, периодически перемешивая содержимое колбы. После этого осаждают пену добавлением нескольких капель эфира, доводят объем раствора до метки горячей дистиллированной водой и вновь помещают колбу в водяную баню еще на 15 мин.

Содержимое колбы охлаждают до 20°С в емкости с водопроводной водой, доводят дистиллированной водой до метки и тщательно перемешивают.

Полученный раствор сахарозы фильтруют через плотный складчатый фильтр в чистый сухой стакан, отбрасывая первые мутные порции фильтрата. Раствор заливают в поляриметрическую кювету и проводят измерения угла вращения.

Содержание сахарозы находят по формуле:

$$\%\ сахарозы = \frac{\alpha \cdot p \cdot 0,75 \cdot 0,9925 \cdot 100}{н},$$

где α – отсчет в градусах по шкале; $0,75$ – количество сахара, соответствующее 1° шкалы прибора, г; $0,9925$ – поправка на объем, если работа велась в мерных колбах, а не колбах Штифта; p – разведение из расчета 200/100; $н$ – навеска мезги.

Аппаратура, реактивы и материалы

1. Поляриметр «POLAMAT» или любой другой модели.
2. Водяная баня.
3. Термометр лабораторный (до 100°С).
4. Весы лабораторные с метрологическими характеристиками (ГОСТ 24104).
5. Колбы мерные объемом 200 $см^3$ (ГОСТ 1770).

6. Фарфоровые чашки. 7. Стеклянные палочки;
8. Воронки лабораторные (ГОСТ 25336). 9. Фильтры – синяя лента;
10. Эфир медицинский. 11. Вода дистиллированная;
12. Свинец уксуснокислый, раствор в дистиллированной воде с массовой долей 10%;

Определение крахмала в зерне на поляриметре по Эверсу

Крахмал – углевод, входящий в группу полисахаридов второго порядка, представляет собой вещество с большим молекулярным весом, нерастворим в воде, но дает коллоидные растворы.

Крахмал, который образуется в вегетативных органах растений в процессе фотосинтеза, называется ассимиляционным, количество его измеряется несколькими процентами, основная же масса крахмала откладывается в запас в некоторых органах: в семенах, клубнях, корнеклубнеплодах – и называется запасной. Особенно богаты крахмалом семена злаков (50–70% сухого веса) и некоторые корнеплоды (10–30% сырого веса).

Крахмал не является химически индивидуальным веществом, кроме полисахаридов в состав его входят минеральные вещества, в основном фосфор и жирные кислоты. *Примерный состав крахмала*:

Полисахариды	96%
Минеральные вещества	0,2–0,7%
Жирные кислоты	1%

Для определения крахмала используют методы кислотного гидролиза, которые основаны на разложении крахмала до декстринов, а затем до глюкозы. Полученная глюкоза впоследствии количественно учитывается химическим методом Бертрана или определяется на поляриметре. Первый метод пригоден для определения крахмала в листьях, стеблях и корнях, т.е. в экстрактах, окрашенных растительными пигментами, а на поляриметре определяют глюкозу в бесцветных вытяжках, полученных при анализе зерна или слабопигментированных корнеплодов. Этот метод является наиболее быстрым из многих, предложенных ранее, и широко применяется в настоящее время.

Принцип метода состоит в гидролизе крахмала слабой кислотой и в определении угла вращения гидролизата на поляриметре. Удельное вращение гидролизатов $[\alpha]_D$ из семян различных культур в среднем принимают равным 181. Для очень точных расчетов этот показатель уточняют по специальным руководствам для определенной культуры: пшеницы, ржи, риса, проса и т.д. Зерно размалывают на мельнице и просеивают через сито с диаметром отверстий 1 мм. Отруби тщательно растирают в ступке и смешивают с мукой, если определение крахмала ведется в эндосперме.

Ход анализа

На аналитических весах берут навеску размолотого зерна или муки (2,5 ± 0,001 г) на кальке и пересыпают через сухую воронку в сухую мерную колбу на 100 $см^3$. В колбу приливают 25 $см^3$ 1%-й соляной кислоты, всю навеску смачивают кислотой. Если окажется, что часть муки прочно пристала к стенкам колбы и не смачивается, навеску необходимо взять снова. Добавляют еще 25 $см^3$ раствора кислоты и ставят на водяную баню. Гидролиз проводят в течение 15 мин на бурно кипящей бане, периодически перемешивая содержимое колб. Сначала масса в колбе густеет из-за клейстеризации крахмала, а затем разжижается.

Колбы охлаждают на водяной бане до комнатной температуры. Доливают в них 30 $см^3$ дистиллированной воды, перемешивают и проводят осаждение белков в растворе. Для этого в колбы приливают 5 $см^3$ 10%-й фосфорно-вольфрамовой кислоты и после перемешивания доводят раствор до метки соляной кислотой. Осаждение белков проходит достаточно быстро, в течение 1 ч. При массовых анализах растворы можно оставить на ночь.

Гидролизат профильтровать через рыхлый фильтр в сухой химический стакан с оттянутым носиком, из него удобнее наполнять поляризационную трубку.

Провести определение угла вращения на поляриметре.

Реактивы

1. 1%-й раствор HCl: 22,6 $см^3$ конц. HCl (d = 1,19) вливают в мерную колбу емкостью 1 $дм^3$, предварительно налив туда 500 $см^3$ воды, доводят до метки дистиллированной водой.
2. 10%-й раствор фосфорно-вольфрамовой кислоты.

Правила работы на поляриметре (дополнение к изложенным в разделе I, с. 28 – 29):

Углеводы являются оптически активными веществами, их прозрачные растворы отклоняют плоскость поляризованного луча, угол отклонения пропорционален концентрации определенного углевода, что позволяет рассчитать его содержание в растворе.

Для каждого углевода есть показатель $[\alpha]_D^{20}$ – удельное вращение – это угол отклонения поляризованного луча света при его прохождении через слой жидкости в 1 $дм^3$ с содержанием 1 г оптически активного вещества в 1 $см^3$ раствора, измеренный при температуре 20°С.

Для определения используют полутеневой поляриметр с полем зрения в виде диска, разделенного на три части разного цвета и границами раздела. Как источник света используют электрическую натриевую лампу.

Источник света и призмы прибора должны располагаться в одной плоскости, поэтому при установке прибора перед источником света помещают иглу, а перед диафрагмой анализатора – лист белой бумаги.

После этого источнику света придают такое положение, чтобы на бумаге получалось резкое изображение иглы, если этого нет, можно добиться лучшей чувствительности, поворачивая вправо или влево диск поляризатора.

1. Диск анализатора несколько раз устанавливают в положение «полутень» при пустом и закрытом ложе прибора, каждый раз несколько сбивая освещение и устанавливая «полутень». Положение «полутень» в нормально работающем приборе фиксируется при ±1°. Наибольшая отчетливость изображения полей достигается горизонтальным движением окуляра.

2. В начале определения в стеклянную трубку (2 дм) наливают дистиллированную воду, помещают ее в ложе прибора и устанавливают положение нулевой точки слабым вращением диска поляризатора. Берут отсчет по шкале. Среднее из 5 определений принимают за «ноль» отсчета, вносимый затем при расчетах со знаком (±).

3. В поляризационную трубку,. закрытую с одного конца стеклом и металлическим кольцом, наливают из стакана исследуемый раствор, формируя выпуклый мениск жидкости. Затем на него сбоку надвигают покровное стекло, укладывая резиновый уплотнитель, и осторожно, но плотно завинчивают металлическое кольцо. Избыточное натяжение колец не допускается, так как стекла пришлифованы. Они должны оставаться чистыми и прозрачными. Если образуются малые пузырьки воздуха, их следует перегнать в расширенную часть трубки, где они не будут мешать определению. Трубка с раствором укладывается в ложе прибора.

4. Световой пучок от источника света проходит сначала через поляризатор, а затем через трубку с раствором оптически активного вещества. Он отклоняется на некоторый угол А, который следует измерить. Для этого вращением диска анализатора вправо и влево добиваются равномерного освещения всех полей диска и исчезновения границ раздела между полями. В таком положении берут отсчет угла отклонения в градусах и по нониусу долей градуса. Для каждого раствора берется пять отсчетов и выводится среднее.

Расчет

$$Содержание\ крахмала\% = \frac{\alpha \cdot V \cdot 100}{[\alpha]_D \cdot H \cdot l \cdot 1000},$$

где α – угол вращения прибора в градусах шкалы; V – объем гидролизата, см^3; $[\alpha]_D$ – удельное вращение углевода (фактор для крахмала средний 181), находят по таблицам; l – длина поляризационной трубки, дм; H – навеска воздушно-сухого материала, г.

Удельное вращение для различных углеводов $[\alpha]_D$: глюкоза +52,8; сахароза +66,5; мальтоза +138,3; фруктоза –92,8; для крахмала пшеницы –182,7, риса –184,0, ржи –184,0.

Форма записи

№ образца	Навеска, г	Объём гидролизата, $см^3$	Отсчёт на поляриметре, град.	Среднее на поляриметре, град.	Длина трубки, дм	$[\alpha]_D$	Крахмал, %

Определение клетчатки весовым методом

Клетчатка – органическое вещество, на долю которого приходится 90% всей биомассы на нашей планете. Она составляет основную массу пожнивных остатков, растительного опада, лесной подстилки. Клетчатка необходима для нормальной работы желудочно-кишечного тракта человека и животных, она труднодоступный, но основной источник углерода для почвенной биоты, трансформация клетчатки – важный процесс для формирования гумуса почвы и обмена биогенных элементов в ней.

Чистая клетчатка или целлюлоза – полисахарид, нерастворимый в воде, но набухает в ней, нерастворим и в слабых кислотах.

Ход анализа

Навеску воздушно-сухого материала, грубого размола предварительно пропущенного через сито с диаметром отверстий 2 мм берут на аналитических весах (1 ± 0,0001 г), помещают в сухую коническую колбу на 300 $см^3$. В колбу приливают 30 $см^3$ смеси концентрированной азотной и уксусной кислот (1:20), плотно закрывают резиновой пробкой с обратным холодильником. Предварительно пробки покрывают фольгой или целлофаном, так как резина в этих условиях разрушается.

Колбу помещают на кипящую баню на 1 – 2 ч, периодически перемешивая содержимое. Надосадочная жидкость в процессе выщелачивания и окисления органики приобретает красно-бурую окраску, а навеска осветляется.

Рыхлый бумажный фильтр подбирают по диаметру воронки Бюхнера и вырезают так, чтобы диаметр фильтра был больше нее на 2 см. Фильтры доводят до постоянного веса при 105°С, взвешивают с точностью до 0,0002 г и помещают в эксикатор.

Готовят воронку Бюхнера для горячего фильтрования. Бумажный фильтр осторожно укладывают на дно воронки, формируя «блюдце» с загнутыми краями. Воронку вставляют в колбу Бунзена.

Для плотного прилегания к воронке фильтр слегка смачивают горячей водой. Пропускают сначала кипящую воду, чтобы нагрелась воронка. Затем фильтруют горячую суспензию из конической колбы. Для отсасывания надосадочной жидкости подключают водоструйный насос.

Осадок клетчатки количественно переносят на фильтр и на фильтре 4 – 5 раз промывают горячей дистиллированной водой. Воду

тщательно отсасывают. Затем отключают насос и клетчатку промывают два раза, используя по 10 см^3 раствора горячей 0,2 М спиртовой щелочи, которая извлекает смолы, дубильные вещества, остатки жира, воска, частично белок.

Осадок после этого еще 4–5 раз промывают горячей дистиллированной водой, тщательно отсасывают воду, подключая насос. Чистую клетчатку обрабатывают после этого 10 см^3 этилового спирта для обезвоживания.

Фильтр с осадком осторожно вынимают из воронки, помещают на часовое стекло, высушивают в шкафу при 105°С до постоянного веса, помещают в эксикатор и взвешивают. Обычно проводят два-три взвешивания.

Расчет

$$\textit{Содержание клетчатки [\%]} = \frac{(a-b)\cdot 100}{H},$$

где a – масса фильтра с осадком, г; b – масса фильтра, г; H – масса навески, г.

Форма записи

№ образца	Навеска, г	Масса фильтра, г	Масса фильтра с сухой клетчаткой, г			Масса сухой клетчатки, г	% клетчатки
			1	2	3		

Реактивы

1. Смесь кислот по объему конц. азотной (d = 1,4) 1 часть и уксусной кислоты 80%-й 20 частей, готовится непосредственно перед работой.
2. 0,2 М раствор спиртовой щелочи: 4 г щелочи растворить предварительно в небольшом объеме воды, добавить спирт до объема 500 см^3.

Определение пектиновых веществ

Пектины – полисахариды, содержащиеся в плодах, корнеплодах, растительных волокнах. В определенных соотношениях с органической кислотой и сахаром, пектины образуют желе и студни, что широко используется в кондитерской промышленности. Максимальное содержание пектиновых веществ находится в белой части кожуры цитрусовых - до 30% на сухое вещество. В основе строения пектиновых веществ лежит полимерная цепочка остатков галактуроновой кислоты, соединенных кислородными мостиками, связь (1–4), в отличие от крахмала и клетчатки, где гликозидная связь устанавливается между остатками глюкозы.

Пектиновая кислота. Если часть ионов водорода в карбоксильной группе замещаются в кислоте на метильную группу – получаем пектины, при замещении на ионы кальция, магния – пектаны, т.е. соли пектовой кислоты, в растительных объектах пектовая кислота связана с крахмалом,

целлюлозой и другими полисахаридами, такие соединения называют протопектинами. Пектиновые вещества в виде нерастворимого в воде протопектина находятся в стенках растительных клеток. Жесткость недозрелых плодов в значительной степени обусловлена присутствием протопектинов в большом количестве. При созревании эти соединения разрушаются и переходят в растворимое состояние. В клеточном соке в основном содержатся пектины и пектаны.

Примерное содержание пектиновых веществ в процентах от сухого вещества: томаты – 2,9; картофель – 2,0; морковь – 10,0; репа – 12,0; редис – 26,9. Существуют объемные, весовые и колориметрические методы их определения.

Пектиновые вещества переводят в раствор в виде пектиновой кислоты. Затем проводят осаждение кислоты раствором хлористого кальция. Полученный осадок промывают, высушивают, определяют вес пектата кальция и рассчитывают содержание пектиновой кислоты.

Ход анализа.

Навеску 25 ± 0,2 г свежего растительного материала растирают в фарфоровой ступке до однородной массы. Затем извлекают растворимые углеводы трехкратной обработкой этиловым спиртом. Первый раз используют 95%-й этанол, затем 80%-й. После этого навеску обрабатывают ацетатом и подсушивают на воздухе.

Осадок переносят в коническую колбу, приливают 100 $см^3$ дистиллированной воды при t = 45°С, и выдерживают при этой температуре на водяной бане 30 мин. Содержимое колбы переносят в центрифужную пробирку и центрифугируют.

Надосадочную жидкость сливают через бумажный складчатый фильтр в мерную колбу на 250 $см^3$. Извлечение повторяют, добавляя 70 $см^3$ и 70 $см^3$ воды. Полученные экстракты объединяют в мерной колбе, доводят до метки. Этот раствор пригоден для определения водорастворимых пектинов – *раствор 1.*

Осадок из центрифужной пробирки переносят в коническую колбу, используя 50 $см^3$ 0,3 н. раствора соляной кислоты.

Экстрагируют пектиновые вещества. Для этого колбу закрывают пробкой с обратным прямым холодильником и выдерживают 30 мин. на кипящей водяной бане.

После этого жидкость фильтруют в мерную колбу на 500 $см^3$, осадок промывают на фильтре горячей водой, промывные воды собирают в ту же колбу.

Промытый осадок вместе с фильтром снова помещают в коническую колбу, приливают 50 – 70 $см^3$ 1%-го раствора лимоннокислого аммония, экстрагируют на водяной бане 30 мин.

Фильтруют в ту же мерную колбу. Осадок на фильтре промывают горячей дистиллированной водой. Доводят общий объем жидкости до

500 $см^3$. Полученный раствор содержит протопектин и пектиновую кислоту. 100 $см^3$ этого раствора берут пипеткой в коническую колбу на 500 $см^3$ и доливают к нему 100 $см^3$ 0,4%-го NaOH для омыления пектина, перемешивают, оставляют на ночь.

Подкисляют раствор после омыления, добавляя 50 $см^3$ 1,0 н. уксусной кислоты и на холоде осаждают пектиновую кислоту, добавляя 50 $см^3$ 2,0 н. раствора $CaCl_2$.

Через час раствор кипятят на плитке или горелке 5 мин. Осадок пектата кальция отфильтровывают через высушенный (до постоянного веса) и взвешенный с точностью до ± 0,0001 г фильтр. Осадок на фильтре многократно промывают сначала 0,5%-м раствором $CaCl_2$, затем холодной водой, отмывая хлор, до исчезновения реакции хлора с $AgNO_3$, затем горячей водой для удаления солей.

Фильтр с осадком высушивают в бюксе при t = 100–105°С примерно в течение 12 ч. Находят вес образовавшегося осадка (г) в виде пектата кальция. Если вес осадка больше 0,03 г, анализ нужно повторить, взяв только 50 мл вытяжки.

Вычисление результатов анализа

Пример. Навеска сырой массы 25 г. Вес осадка пектата кальция 0,028 г. С учетом разведения в навеске содержится 0,1405 г пектата кальция или 0,56% на сырую навеску. При содержании сухого вещества ~ 12%, содержание пектата кальция будет 4,98%. Для перевода в пектиновую кислоту результат умножают на 0,92.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИТАМИНОВ В РАСТЕНИЯХ

Общие свойства и классификация витаминов

Витамины представляют группу низкомолекулярных органических соединений, среди них имеются углеводы, спирты, кислоты. Разнообразные по химическому составу, они объединяются по принципу их строгой необходимости для жизни человека и животных. Их отсутствие в пищевом рационе вызывает ряд специфических заболеваний, связанных с обменом веществ (витамин С) и с поражением нервной системы (витамин B_1). В растениях витамины выполняют роль биокатализаторов.

Некоторые растения или их отдельные органы являются естественными резерваторами витаминов для человека; например, все листовые овощи – лук, петрушка, укроп – накапливают значительные количества аскорбиновой кислоты и каротина, для животных таким резерватором являются луговые травы и силосные культуры. Богатым источником витаминов группы В являются отруби и зародыши зерна злаковых культур.

Содержание витаминов в растениях определяется условиями выращивания и фазой развития растений, зависит от особенностей сорта

и географической широты местности. Значительные различия в содержании витаминов отмечены по отдельным органам и тканям растений.

Обычно шиповник и другие плодово-ягодные культуры, выращенные в условиях северных областей, более богаты витамином С, чем их южные аналоги. Большие различия в содержании каротина по сортам отмечены у моркови, тыквы, красного перца. Накопление каротина тесно коррелирует с использованием азотных удобрений, а борные, цинковые и марганцевые удобрения способствуют накоплению витаминов группы В в зерновых культурах.

Витамины принадлежат к очень лабильным соединениям (кроме витаминов группы В), быстро разрушаются кислородом воздуха, поэтому при анализе особое внимание следует обратить на отбор средней пробы и на скорость подготовки материала к анализу.

К витаминам относят несколько десятков различных химических соединений, некоторые из них обладают аналогичной витаминной активностью, и поэтому их объединяют в родственные группы, иногда обозначаемые как один витамин. Классифицируют витамины обычно на основании их растворимости в воде или в жирах, хотя можно использовать и их химическую классификацию. В основу названия витаминов положена их химическая структура, однако для некоторых витаминов сохраняются и их буквенные обозначения.

Витамины, растворимые в жирах	***Витамины, растворимые в воде***
Ретинол (витамин группы А);	Тиамин (витамин B_1);
Кальциферол (витамин группы Д);	Рибофлавин (витамин B_2);
Токоферол (витамины группы Е);	Пиридоксин (витамин B_6);
Комплекс ненасыщенных жирных кислот (витамины группы F).	Цианокоболамин (витамин B_{12});
	Пангамовая кислота (витамин B_{15});
	Никотиновая кислота (витамин РР);
	Аскорбиновая кислота (витамин С);
	Цитрин (витамин Р);
	Фолиевая кислота;
	S-метилметионин (витамин V).

Все витамины обладают значительной термостабильностью, за исключением аскорбиновой кислоты, которая при нагревании в присутствии кислорода разрушается.

Подготовка растений к анализу

Среднюю пробу плодов, кочанов, клубней, листовых овощей доставляют с поля в лабораторию, обмывают водой, просушивают фильтровальной бумагой или марлей. Поскольку средняя проба составляется примерно из 10 – 20 экземпляров, измельчение всего материала представляет значительные трудности, поэтому корни и клубнеплоды делят

предварительно на сегменты. Например, клубень картофеля по вертикали делят на 6 – 8 частей и для анализа от каждого клубня берут одну из таких частей. При этом необходимо учитывать, чтобы отношение сердцевины корнеплода к его периферийной части оставалось бы примерно таким, как в целом корнеплоде.

Мелкие плоды и ягоды измельчают целиком. У листовых овощей в анализ берут половину листа от каждого растения, разделяя лист по средней жилке.

Полученный растительный материал измельчают на кафельной или пластмассовой пластинке ножом из нержавеющей стали или пластмассовой терке. Для сочных плодов можно применить гомогенизатор тканей. Недопустимо применение железных и медных предметов, поскольку железо и медь катализируют разрушение аскорбиновой кислоты. Две параллельные навески из одного образца берут на часовом стекле на технических весах.

Определение аскорбиновой кислоты (витамина С) по Мурри

Аскорбиновая кислота в растениях образуется из углеводов. Прорастание семян сопровождается интенсивным накоплением и в темноте и на свету аскорбиновой кислоты. Так, при прорастании семян ячменя в темноте содержание ее через день составляло 0,6 мг на 100 г сухой массы, через три дня – 1,7, через пять дней – 5,8, а через восемь – 8,8 мг. Количество витамина С в листьях растений достигает максимума в фазе цветения, а затем резко снижается.

Накопление аскорбиновой кислоты в растениях в сильной степени зависит от условий их выращивания. В листьях, стеблях, плодах растений, выращенных в северных районах, витамина С значительно больше, чем в растениях, возделываемых на юге. В растительной продукции, выращенной в теплицах (защищенном грунте), витамина С значительно меньше, чем в продукции открытого грунта.

Растения на легких почвах содержат больше аскорбиновой кислоты по сравнению с теми же сортами растений, выращенных на тяжелых почвах.

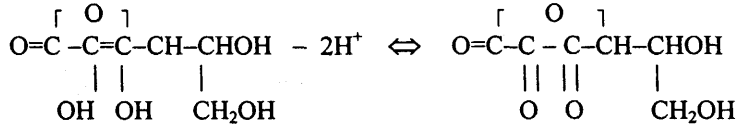
Условия питания растений также оказывают значительное влияние на содержание в растениях аскорбиновой кислоты. Фосфорно-калийные удобрения обычно повышают содержание витамина С в растениях, а азотные удобрения, наоборот, понижают.

Больше всего витамина С в зеленых растениях, свежих овощах и фруктах. При хранении плодов и овощей содержание аскорбиновой кислоты понижается; значительная часть ее разрушается также при варке пищи.

31. Содержание витамина С в некоторых плодах и овощах (в мг на 100 г сырого веса)

Картофель	10–20	Яблоки	5–30
Белокочанная капуста	10–40	Вишня	5–15
Капуста цветная	50–150	Виноград	0–5
Морковь	5–10	Чёрная смородина	100–400
Томаты	20–40	Лимон	40–60
Лук репчатый	5–20	Шиповник	1000–4000
Лук зелёный	40–60	Зерно злаков	0

Аскорбиновая кислота $H_8C_6O_6$, М = 176, обладает сильными восстановительными свойствами. В растительном организме легко осуществляется переход аскорбиновой кислоты в дегидроаскорбиновую и обратная реакция, поскольку в молекуле имеются 2 энольные группы



Водные экстракты растений, содержащие аскорбиновую кислоту, восстанавливают раствор синей краски 2,6-дихлорфенол-индофенол в бесцветное соединение. Эта реакция и составляет основу метода определения аскорбиновой кислоты.

Ход анализа

Навеску измельченного материала, 1–3 г для зеленых листьев и 5 – 10 г для корнеплодов, берут на технических весах и помещают в фарфоровую ступку.

На кончике скальпеля добавляют кварцевый песок и приливают из цилиндра 20 $см^3$ 1%-й соляной кислоты, раствор кислоты прибавляют порциями по 5 $см^3$ в процессе растирания.

Содержимое ступки растирают пестиком до гомогенной массы, растирание длится не более 10 мин. Носик ступки с наружной стороны смазать вазелином. В ступку приливают 5 – 10 $см^3$ 2%-го раствора метафосфорной кислоты для фиксации извлеченной аскорбиновой кислоты.

Гомогенат из ступки количественно переносят в мерную колбу на 100 $см^3$, пользуясь воронкой без фильтра и стеклянной палочкой. Ступку, пестик и палочку многократно споласкивают 2%-м раствором метафосфорной кислоты, сливая промывную жидкость в ту же колбу, перемешивая содержимое колбы, и метафосфорной кислотой доводят до метки.

Содержимое колбы оставляют на 10 – 15 мин для лучшей экстракции аскорбиновой кислоты и осаждения белков. Гомогенат фильтруют через рыхлый бумажный фильтр в сухую коническую колбочку или стакан на 100 $см^3$.

Из фильтрата берут пипеткой две параллельные пробы по 10 – 20 см^3 и переносят в малые фарфоровые чашечки, диаметром 6 – 8 см, их содержимое титруют из микробюретки объемом 2 – 5 см^3 синей краской 2-6-дихлорфенолиндофенола до появления ясно-розовой окраски, не исчезающей 1 мин. Каждую каплю краски размешивают стеклянной палочкой. Если фильтрат окрашен, то титрование проводят следующим образом: 5 – 10 см^3 фильтрата помещают в пробирку и прибавляют 2 см^3 дихлорэтана. Титруют в пробирке, слегка встряхивая, до окрашивания капли дихлорэтана на дне пробирки.

Учитывая, что смесь соляной и метафосфорной кислот может также обладать восстановительными свойствами по отношению к синей краске, вводят поправку в результат опытного титрования. Для этого в контрольную колбу на 100 см^3 помещают 20 см^3 1%-й HCl, доливают до метки метафосфорной кислотой, перемешивают. Берут две параллельные пробы раствора, равные по объему опытным, помещают в чистые фарфоровые чашечки. Титруют контрольные растворы синей краской из микробюретки. Полученный результат (поправку) вычитают из данных титрования опытных растворов.

Примечание. Соляная кислота извлекает из растительных тканей аскорбиновую кислоту и способствует инактивации ферментов.

Метафосфорная кислота используется для осаждения белков и повышения устойчивости аскорбиновой кислоты в экстрактах. В связи с этим, при массовых анализах титрование можно отложить на 2 ч, а при хранении в холодильнике даже на сутки.

Расчёт

Содержание аскорбиновой кислоты выражают в мг витамина на 100 г сырого веса (мг %):

$$Содержание\ витамина\ C = \frac{X \cdot A \cdot V \cdot 100}{d \cdot H},$$

где: X – поправочный коэффициент (показывает количество аскорбиновой кислоты (мг), соответствующее 1 см^3 приготовленной краски); A – объем краски, пошедшей на титрование, см^3; V – общий объем растительного экстракта, см^3; d – объем экстракта, взятого на титрование, см^3; H – навеска, г.

Определение поправочного коэффициента X для краски

Приготовить раствор краски точно указанной нормальности невозможно, так как это соединение лабильное, поэтому используют следующий прием.

Готовят раствор аскорбиновой кислоты слабой концентрации, для этого 1,5 мг (несколько кристалликов) кислоты растворяют в мерной колбе на 50 см^3 в 2%-й соляной кислоте и доводят до метки. Берут две параллельные пробы приготовленного раствора по 10 – 15 см^3 в

фарфоровые чашечки, первую из них титруют раствором синей краски, а вторую – раствором точно известной нормальности йодата калия, но в эту чашечку перед титрованием добавляют 5–10 мг KI на кончике скальпеля и 5 капель 1%-го растворимого крахмала. Известно, что 1 $см^3$ точно 0,001 н. раствора краски соответствует 0,088 мг аскорбиновой кислоты, поэтому рассчитывают поправочный коэффициент (X) так:

$$X = \frac{0{,}088 \cdot a}{b},$$

где a – количество йодата калия 0,001 н. ($см^3$), пошедшее на титрование; b – количество краски ($см^3$), пошедшей на титрование приготовленного раствора аскорбиновой кислоты.

Реактивы.

1. 0,001 н. раствор 2,6-дихлорфенолиндофенола (синяя краска): 60 мг вещества количественно переносят в мерную колбу на 200 $см^3$, доливают приблизительно 150 $см^3$ дистиллированной теплой воды и 3–4 капли 0,01 н. щелочи NaOH, растворяют краску, доводят раствор до метки, перемешивают и фильтруют раствор через рыхлый фильтр. Раствор сохраняется в холодильнике около недели. Краску перед взятием навески не высушивают, при нагревании она теряет свои свойства.
2. 0,001 н. раствор йодата калия KIO_3. Берут точную навеску 0,2568г вещества, предварительно высушенного при температуре 102°С в течение двух часов. Растворяют в мерной колбе на 1 $дм^3$, доводят до метки. Этот стандартный раствор 0,01 н. разбавляют в 10 раз, для этого 100 $см^3$ раствора при помощи пипетки помещают в мерную колбу на 1 $дм^3$, доводят до метки дистиллированной водой и получают 0,001 н. раствор иодата калия.
3. 1%-я соляная кислота: 22,6 $см^3$ конц. HCl в 1 $дм^3$ раствора.
4. 2%-я метафосфорная кислота.
5. Аскорбиновая кислота кристаллическая.
6. Йодистый калий кристаллический.
7. Крахмал воднорастворимый, 1%-й раствор.
8. 0,01 н. раствор NaOH готовят из фиксанала.

Определение каротина по Сапожникову

Растительные пигменты, окрашенные в желтый или оранжевый цвет, нерастворимы в воде, но растворимы в органических растворителях типа бензина, ацетона, петролейного эфира, составляют группу каротиноидов. Наиболее известным представителем ее является каротин-пигмент, придающий специфическую окраску корням моркови, зернам кукурузы, наряду с хлорофиллом он окрашивает зеленые части растений. Формула каротина – $C_{40}H_{56}$. Обычно растительные пигменты представляют собой смесь двух-трех изомеров, характерной особенностью каротиноидов является наличие в них значительного числа сопряженных двойных связей (около 15), образующих их хромофорные группы, от которых зависит окраска. Предполагают, что каротиноиды как переносчики

активного кислорода у растений играют важную роль в процессах фотосинтеза, дыхания, роста.

Их значение в питании человека и животных связано с тем, что при ферментативном разложении одной молекулы каротина в животном организме образуются две молекулы витамина А. Отсутствие или недостаток витамина А приводит к нарушению роста, снижению иммунитета к болезням, ослаблению зрения, называемому куриной слепотой. Наиболее важным источником витамина А в пище человека являются листовые овощи (салат, шпинат, зеленый лук), морковь, томаты, а также жиры из печени морских рыб (рыбий жир), для животных – окрашенные корнеплоды и луговые травы.

Определение каротина необходимо для оценки качества растительной продукции в зависимости от ряда агротехнических факторов и приемов; в зоотехнике для составления рационов кормления и в здравоохранении для разработки лечебного питания.

В основе всех методов определения каротина присутствует метод хроматографического анализа (см. раздел I, с. 52 – 56), разработанный русским ученым М.Е. Цветом Принцип метода состоит в том, что сложная смесь различно окрашенных веществ экстрагируется из листьев или корнеплодов каким-либо органическим растворителем или их смесью, например спиртом, ацетоном. Экстракт пропускают через стеклянную трубку, заполненную адсорбентом. Как адсорбенты используются тонко размолотые тальк, крахмал, углекислый кальций или окись алюминия и др. В связи с тем, что каждый из пигментов обладает различной скоростью движения по адсорбционной колонке с фронтом растворителя и специфической адсорбционной способностью, происходит концентрация данного пигмента в определенном слое адсорбента. Слой адсорбента, содержащий тот или иной пигмент, вынимают из трубки или колонки. Пигмент выделяют из адсорбента с помощью какого-либо другого растворителя и количественно определяют, измеряя интенсивность окраски на спектрофотометре или колориметре.

Ход анализа

Пробу свежих листьев или корнеплодов предварительно измельчают скальпелем на кафельной плитке или пластмассовой терке (приблизительно 20 – 30 г). Две параллельные навески по 1–5 г из пробы берут на часовом стекле на технических весах и помещаются в фарфоровую ступку.

В ступку добавляют 0,5 г соды (Na_2CO_3) для нейтрализации органи-ческих кислот (поскольку в кислой среде каротин разрушается), и безводный натрий сернокислый из расчета 3 г на 1 г сырой навески для обезвоживания материала, перемешивают массу скальпелем.

В ступку добавляют 5 г адсорбента Al_2O_3 и 0,5 г кварцевого песка, перемешивают и тщательно пестиком растирают содержимое ступки до

образования сухой гомогенной массы, которую затем ставят в темное место на 20 мин для полноты адсорбции пигментов.

Готовят адсорбционную воронку. Для этого в нижнюю часть стеклянной воронки закладывают ватный тампон средней плотности, затем небольшими порциями насыпают окись алюминия, уплотняя его слегка стеклянной палочкой. Высота адсорбционного слоя должна быть примерно 2,5 см.

Поверхность адсорбента, выровненную скальпелем, слегка смачивают по всей воронке каплями дистиллированной воды (примерно 15 капель) и воронку вставляют в приемник, обычно используют мерную колбу на 100 $см^3$.

Гомогенную массу из ступки количественно с помощью скальпеля переносят на поверхность адсорбционной воронки, распределяя равномерно.

В ступку наливают 20 $см^3$ бензина, тщательно споласкивают пестик и стенки ступки, вычищая остатки адсорбента скальпелем, содержимое выливают в воронку, операцию повторяют до тех пор, пока в ступке не останется следов пигментов.

Бензин медленно приливают из стакана на воронку, вся поверхность навески должна быть покрыта тонким слоем бензина, так как на воздухе каротин может окисляться. Экстракцию каротина проводят до тех пор, пока желтые пигменты на ватном тампоне не перейдут в раствор приемника каротина, а капли бензина, поступающие в приемник, не будут бесцветными.

Содержимое колб после экстракции доводят до метки чистым бензином и колориметрируют. Можно измерить цилиндром объем полученного раствора каротина, записать в журнал и колориметрировать с синим светофильтром (длина волны 420 нм), кюветы 0,5 см. В контрольную кювету наливают бензин.

Расчет

$$Содержание\ каротина\ [мг\ \%] = \frac{A \cdot V \cdot 100}{H},$$

где A –каротин по графику, мг; V – объем полученного экстракта, $см^3$; H – навеска растительного материала, г.

Форма записи.

Вариант образец	Навеска, г	Экстракт $см^3$	Показания ФЭКа	Каротин по графику, мг	Каротин, мг %

Реактивы

1. Окись алюминия (Al_2O_3), высушенная при 105°С в сушильном шкафу, увлажненная затем до 4% влаги, сохраняется в склянке с притертой пробкой.

2. Натрий сернокислый безводный, Na_2SO_4, порошок.

3. Сода, Na_2CO_3, порошок.

4. Бензин, очищенный на активированном угле.

5. Основной стандартный раствор двухромовокислого калия $K_2Cr_2O_7$ для построения графика на каротин (720 мг $K_2Cr_2O_7$ «х.ч.» растворяют в 1 $дм^3$ дистиллированной воды. 1 $см^3$ этого раствора соответствует 0,00416 мг каротина. Разведения готовят в колбах на 100 $см^3$, доводя раствор до метки водой. Исходный раствор двухромового калия долго сохраняется в темноте.

♦ *Работу по извлечению каротина проводят под тягой, при этом недопустима работа любых нагревательных приборов в помещении и курение!*

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЖИРОВ В РАСТИТЕЛЬНОМ МАТЕРИАЛЕ

Жиры и липиды (жироподобные вещества), содержащиеся в растениях, выполняют ряд важнейших функций. Различают запасные и цитоплазматические жиры. Из липидов и липопротеидов построены мембранные слои на поверхности клеток и клеточных структур: митохондрий, пластид, ядер. Цитоплазматические липиды, таким образом, регулируют проницаемость клеточных мембран для различных веществ. Содержание их в растениях невелико: 0,1 – 0,5% от веса сырой растительной ткани. Запасные жиры содержатся в основном в семенах. Известно, что многие виды растений накапливают как основной продукт жизнедеятельности семян жиры, а не углеводы, поскольку при окислении жиров в процессе прорастания семян накапливается в два раза больше энергии, чем при окислении крахмала. Меньше содержится жиров в семенах зерновых культур: 2 – 3% у ржи, ячменя, пшеницы, 6% у кукурузы. Масличные культуры содержат значительно больше жиров: подсолнечник 30 – 50%, соя 20 – 30%, клещевина 50 – 60%. Растительные жиры – ценный продукт питания человека и животных, значительная часть жиров используется в лакокрасочной промышленности.

Пигменты, содержащиеся в жирах, обусловливают их окраску: желтоватый цвет связан с наличием каротина, зеленоватый – хлорофилла.

В зависимости от условий выращивания растений изменяется количество жиров и состав жирных кислот в масле. Содержание жиров у одного вида растений заметно выше при выращивании в условиях северных широт, внесение азотных удобрений связано с интенсивным синтезом белка и снижением процента жиров.

Процесс маслообразования стимулируется использованием фосфорных, калийных удобрений и применением орошения.

Качество жиров изменяется и в процессе хранения: под действием кислорода воздуха и ряда ферментов, особенно на свету, жиры портятся, прогоркают. Свободные жирные кислоты, которые выделяются при этом, объясняют неприятный вкус и запах.

Кислотное число жиров при этом повышается. Для оценки качества жиров используют следующие показатели: кислотное число, йодное число, число омыления, перекисное число, показатель преломления или рефракции (см. табл. 27 в ПРИЛОЖЕНИИ).

Определение общего содержания жира

Для ускорения процесса экстракции жира из растительной пробы необходимо измельчение материала, но не очень тонкое. Обычно материал с низким содержанием жиров (до 10%) зерновые и вегетативные органы – размалывают на мельнице «Пируэт» и пропускают через сито в 1 мм без остатка. Измельчение семян с высоким содержанием жиров производить таким образом нельзя из-за больших потерь масла при размоле. Поэтому такие пробы тщательно растираются в фарфоровой ступке. Предварительно растирают небольшое количество исследуемого материала, при этом происходит насыщение поверхности ступки и пестика маслом, а материал выбрасывают.

Рекомендуется брать навеску материала в воздушно-сухом состоянии и в отдельной пробе определять абсолютно сухой вес.

Высушивание материала при повышенной температуре допускается только в вакууме или токе индифферентного газа (углекислом газе и водороде), чтобы исключить окисление на воздухе маслянистых веществ и изменение их растворимости.

Избыточное присутствие влаги в анализируемом материале увеличивает извлечение примесей и затрудняет извлечение самого жира.

Для технических целей допускается выполнять анализы с предвари-тельным подсушиванием взятой навески в обычном сушильном шкафу при температуре 100 – 105°С в течение 3 ч. После этого бюкс с навеской охлаждают в эксикаторе и взвешивают на аналитических весах.

Этот способ сушки не пригоден при анализе материалов с высоким процентом жиров и высоким содержанием непредельных жирных кислот.

Экстракцию жира необходимо проводить сразу же после измельчения анализируемого материала, чтобы избежать процессов окисления жира. Хранить растертые образцы можно только в токе инертного газа.

Сушить материал в термостате при доступе воздуха нельзя, особенно материал с высоким процентом жира. Ненасыщенные жирные кислоты, которые входят в состав растительных жиров, при нагревании на воздухе присоединяют кислород по месту двойной связи, в результате увеличивается вес извлекаемого масла и изменяется его качество. Навеску растительного материала помещают в предварительно подготовленный пакет или патрон из плотной фильтровальной бумаги размером 10×12 см.

Патрон готовят, навертывая фильтровальную бумагу на соответствующую стеклянную пробирку. Основание патрона на 0,5 см перекрывает основание пробирки. Его стягивают и завязывают обезжиренной ниткой. Надежные результаты дает также использование стеклянных патронов с пористыми фарфоровыми пластинками.

Уплотнять навеску в патроне не следует, так достигается более равномерная и быстрая экстракция жира. Сверху навеска закрывается обезжиренной ватой. Таким путем устраняются потери материала при разбрызгивании и равномерное распределение эфира по поверхности навески.

Навеска растительного материала определяется его природой: для низкомасличных образцов с содержанием жира до 10% она составляет 10 ± 0,005 г, а для высокомасличных с содержанием жира более 40% – 1– 3 г. Низкое содержание жира наблюдается в вегетативных органах, зерне зерновых и зернобобовых культур, исключая арахис и сою.

Патрон с навеской помещают в экстрактор аппарата Сокслета. Аппарат состоит из трех частей: круглодонной стеклянной колбы для растворителя, экстрактора с двумя стеклянными трубками и шарикового холодильника. По объему колбы и экстракторы соответствуют друг другу и имеют стандартный объем 100, 200, 400 $см^3$. Все части прибора соединяются между собой шлифами. Аппараты монтируют в блок по 4 – 6 штук на один нагревательный прибор. Для подогрева растворителя используют водяные бани с терморегулятором.

Перед определением круглодонные колбы доводят в термостате до постоянного веса, взвешивают на аналитических весах и хранят в большом эксикаторе. Для работы в колбу приливают 2/3 – 3/4 объема сухого чистого эфира (очистку эфира см. далее «Реактивы»).

Соединяют колбу с экстрактором и холодильником. Подготовленный аппарат ставят на водяную баню, включают подогрев и холодильник. Нагревание и кипение эфира регулируют так, чтобы каждое сливание эфира из экстрактора в колбу происходило примерно через 6 мин. Как слишком слабое, так и чрезмерно сильное кипение замедляет извлечение жира. Температуру в водяной бане поддерживают на уровне 45 – 50°С.

При кипении пары эфира поднимаются по узкой боковой трубочке, заполняют весь объем экстрактора и поднимаются по шарикам внутренней трубки холодильника. Там пары эфира конденсируются, стекают по трубке вниз, попадая в патрон с навеской или на пакет. Когда уровень эфира поднимается выше верхнего колена сифонной трубочки, эфир с извлеченным жиром стекает в круглодонную колбу. Регулировать температуру экстракции можно погружением колбы в водяную баню, снижением водяного охлаждения в воздушном холодильнике, покрытием колбы и сифонов асбестовой тканью.

Чтобы капли конденсированной влаги на поверхности холодильника не попадали на шлифы, экстракционную трубку обматывают несколько раз шпагатом, концы которого свободно свисают по стенкам трубки.

При нормальной работе прибора извлечение из образцов с малым содержанием жира обычно заканчивается за 4 – 6 часов, а с большим – за 5 – 8 часов. Не рекомендуется проводить экстракцию более 12 часов. Конец экстракции определяют следующим образом: отсоединяют колбу от трубки и на чистое часовое стекло берут несколько капель эфира, стекающего из экстрактора. После испарения эфира стекло должно остаться абсолютно чистым, если на стекле образуется налет – экстракция считается незаконченной. При очень длительной экстракции появление налета является результатом извлечения небольшого количества трудно растворимых в эфире веществ, а не жира.

После окончания экстракции колбу отсоединяют от экстрактора, соединяют с холодильником и отгоняют основную массу эфира на водяной бане при температуре 50 – 60°С. Полное удаление эфира из колбы проводят в токе инертного газа: водорода, азота или углекислоты. До постоянного веса колбы сушат в термостате 1 час при температуре 70°С.

Количество жира рассчитывают по формуле:

$$Содержание\ сырого\ жира\ [\%] = \frac{a \cdot 100}{H \cdot (100 - y)},$$

где a – масса сырого жира, г; H – навеска, г; y – содержание влаги в образце, %.

Полученный препарат жира используется далее для более детальной химической характеристики: определения йодного и кислотного чисел, числа омыления и др.

Реактивы

Обычно серный эфир, используемый для экстракции, содержит примеси: воду, спирт и ацетон. Для очистки от спирта и ацетона эфир промывают дистиллированной водой: в делительную воронку емкостью 0,5 $дм^3$ берут 200 $см^3$ эфира и 50 $см^3$ воды, взбалтывают; пары эфира выпускают через стеклянную пробку, а воду сливают через кран, операцию повторяют 2 – 3 раза. Отмытый эфир сушат, добавляя в темную склянку с эфиром зернистый хлористый кальций до тех пор, пока часть гранул не перестанет растекаться и мазаться. Оставляют раствор на двое суток в склянке, закрытой корковой пробкой с хлоркальциевой трубкой, затем эфир осторожно отгоняют на водяной бане. При работе с эфиром следует соблюдать меры предосторожности. Очистку эфира производить в прохладном помещении и не нагревать воронку руками. Отгонку эфира производить при температуре не более 60°С, избегая близости огня. Защищать эфир от действия света, так как возможен взрыв его паров.

Определение жира по массе обезжиренного остатка по Рушковскому

Этот метод находит широкое применение при массовых анализах в селекции и зоотехнии, достаточная точность метода сочетается с высокой производительностью.

Ход анализа

Бумажные пакетики предварительно обезжиривают, доводят до постоянного веса, нумеруют простым карандашом. Навеску измельченных семян массой 1 г помещают в пакетик, сушат в термостате при температуре 105°С до постоянного веса, вес записывают в журнал. Пакеты с навесками по 10 – 12 шт. помещают в рыхлый марлевый мешочек и опускают в широкогорлую банку с притертой пробкой из темного стекла емкостью 1 – 1,5 дм^3. Заливают содержимое банки на 3/4 объема петро-лейным эфиром или авиабензином.

Периодически мешочек с навесками встряхивают, растворитель сливают и заменяют новой порцией, в течение двух суток операцию повторяют три раза. После этого пакетики с частично обезжиренными навесками помещают на 2 – 4 часа в аппарат Сокслета и остатки масла извлекают этиловым эфиром, как описано выше. Затем пакетики помещают в широкий кристаллизатор и под тягой дают испариться растворителю.

После этого каждый пакетик кладут в бюкс с притертой крышкой, доводят до постоянного веса при температуре 100 – 105° С в течение 2 – 3 ч. Преимущество метода состоит в том, что за одну экстракцию анализируется 15 – 20 образцов. Значительно упрощает работу последнее взвешивание обезжиренных и высушенных пакетиков на торсионных весах.

Массу сырого жира находят по разности масс пакетика с навеской до и после экстракции.

Содержание жира (в %) вычисляют по формуле

$$\text{Содержание сырого жира} = \frac{a \cdot 100}{H},$$

где a – масса сырого жира, г; H – навеска, г.

Определение кислотного числа

В жирах почти всегда содержится незначительное количество свободных жирных кислот. Кислотное число – количество (мг) едкого кали, необходимое для нейтрализации свободных кислот в 1 г масла. Кислотное число масла – величина непостоянная, обычно она снижается при созревании семян и увеличивается при прорастании семян за счет гидролиза жиров, а также при длительном хранении семян масличных культур. Растительные жиры содержат больше свободных кислот, чем

животные жиры, содержание их зависит от внешних условий выращивания и хранения.

Принимая условно всю кислотность жира за олеиновую кислоту с молекулярной массой 282,3, можно выражать кислотность в процентах от свободной олеиновой кислоты.

Принцип метода. Навеску масла растворяют в смеси этилового спирта и серного эфира, при комнатной температуре быстро титруют 0,1 н. водным раствором едкого кали по фенолфталеину, а окрашенные жиры – по тимолфталеину.

Ход анализа

Навеску масла 1 – 5 г (чем выше ожидаемое кислотное число, тем меньше навеска) берут на аналитических весах в чистую сухую колбу на 100 $см^3$ и приливают 50 $см^3$ нейтральной смеси серного эфира и спирта при соотношении 2:1.

Слегка взбалтывают и растворяют масло. Если при этом масло плохо растворяется, жидкость слегка нагревают на водяной бане при взбалтывании. Охлаждают до комнатной температуры, добавляют 5 капель фенолфталеина, а для темноокрашенных жиров, где трудно наблюдать переход окраски, – несколько капель тимолфталеина и при постоянном помешивании быстро титруют 0,1 н. водным раствором едкого кали по фенолфталеину до ярко-розовой окраски, а по тимолфталеину – до появления синей окраски.

Расчет результатов производится по формуле

$$\textit{Кислотное число} = \frac{a \cdot 56{,}11 \cdot 100}{H \cdot 1000},$$

где a – объем 0,1 н. щелочи, израсходованный при титровании, $см^3$; H – навеска масла, г; *56,11* – эквивалент КОН.

Процент свободных жирных кислот равен кислотному числу, умноженному на *0,503* (пересчетный коэффициент, который включает отношение молекулярной массы олеиновой кислоты 282,3 к молекулярной массе едкого кали 56,11).

Реактивы

1. Употребляемая для растворения смесь должна иметь нейтральную реакцию. На 2 объема серного эфира берут 1 объем 95%-го этилового спирта, тщательно перемешивают. Прибавляют к смеси несколько капель индикатора и титруют той же 0,1 н. едкой щелочью до получения заметной окраски.
2. 1%-й раствор фенолфталеина.

Определение числа омыления

Число омыления показывает, сколько миллиграммов едкого кали необходимо для нейтрализации свободных и связанных жирных кислот, которые содержатся в 1 г жира. Числом омыления учитывают общее количество кислот, входящих в состав масла, а также среднюю величину молекулярной массы этих кислот.

Число омыления изменяется в пределах от 160 до 270 ед. в зависимости от вида культуры и технологии полученная масла, более низким числом омыления обладают жиры из семян крестоцветных.

Принцип метода. Определенное количество жира растворяют в избытке титрованной щелочи при нагревании на водяной бане. Жир гидролизуется на глицерин и жирные кислоты:

$$\begin{array}{l} CH_2OCOR_1 \\ | \\ CHOCOR_2 + 3H_2O \rightarrow \\ | \\ CH_2OCOR_3 \end{array} \quad \begin{array}{l} CH_2OCOH \\ | \\ CHOCOH + R_1COOH + \ldots + R_3COOH. \\ | \\ CH_2OCOH \end{array}$$

Затем жирные кислоты нейтрализуются едкой щелочью:

$$R_1COOH + KOH \rightarrow R_1COOK + H_2O.$$

Остаток щелочи, не связанный в реакции, оттитровывают соляной кислотой по фенолфталеину или другому индикатору.

Ход анализа

Навеска масла (от 1 до 3,0 г) берется на аналитических весах в зависимости от ожидаемых результатов. Масло помещается в сухую чистую круглодонную колбу на 100 см^3. При навеске 1 – 2 г приливают из бюретки точно 25 см^3 0,5 н. едкого кали в спиртовом растворе, а при навеске 2 – 3 г – 50 см^3 щелочи. Закрывают колбу обратным холодильником. Кипятят на водяной бане, периодически взбалтывая раствор, до получения прозрачной жидкости в течение 0,5 – 1 ч.

Одновременно проводят контрольное определение: в такую же колбу приливают 2 см^3 дистиллированной воды, 25 см^3 щелочи и ставят на водяную баню.

При содержании в материале восков или смол добавляют в колбу такой же объем одного из растворителей (толуола, ксилола) для повышения температуры кипения, а время кипения увеличивают до 2 ч. Если в материале содержится много неомыляемых веществ, то получить прозрачный раствор не удается.

Неостывший раствор в колбе титруют 0,5 н. раствором соляной кислоты, используя в качестве индикатора фенолфталеин, а в случае окрашенной вытяжки – тимолфталеин. Одновременно титруют раствор в контрольной колбе.

Результаты рассчитываются по формуле

$$X = \frac{(H_{щ} \cdot y - H_{к} \cdot a) \cdot 56,11}{H},$$

где X – число омыления, мг КОН; $H_{щ}$. – нормальность щелочи; $H_{к}$ – нормальность кислоты; y – объем щелочи, прилитый в колбу, см^3; a – объем кислоты, определяемый по разности титрования растворов из контрольной и опытной колб, см^3; H – навеска масла, г; $56,11$ – эквивалент КОН.

Реактив

Спиртовой раствор щелочи: 30 г чистого едкого калия растворяют в минимальном объеме дистиллированной воды (≈ 20 см^3). После растворения навески добавляют к ней примерно 1 г гидроокиси бария в концентрированном растворе для осаждения карбонатов, доводят раствор чистым спиртом до объема 1 дм^3. Оставляют раствор отстаиваться на одни сутки. В случае появления осадка, фильтруют и сохраняют в склянке из темного стекла, защищая от CO_2.

Очистку спирта от альдегидов и сивушных масел проводят, добавляя небольшое по весу количество кристаллического $KMnO_4$, перемешивают, отстаивают одни сутки и отгоняют чистый спирт на водяной бане. Спиртовой раствор щелочи при длительном хранении буреет и становится непригодным к употреблению даже при очищенных реактивах.

Определение йодного числа по Ганусу

Йодное число показывает количество граммов йода, которое может связать 100 г соответствующего жира или масла. Йодные числа в разных маслах изменяются в широких пределах от 30 до 170, самым низким йодным числом отличается кокосовое масло. Определение этого показателя основано на способности ненасыщенных кислот присоединять два атома йода по месту разрыва двойной связи.

Йодное число указывает на количественное содержание непредельных жирных кислот, не указывая на их состав. С повышением йодного числа увеличивается способность жиров к окислению, более жидкой становится консистенция, часть таких масел используется для приготовления лаков, красок и олифы. Пищевые масла отличаются более низким йодным числом. Этот показатель изменяется в зависимости не только от видовых особенностей культуры, но и от агротехнических и почвенно-климатических условий.

Принцип метода. Принято считать, что йод из раствора присоединяется по месту разрыва двойной связи в ненасыщенной жирной кислоте. Однако йод при обычной температуре реагирует с маслами крайне медленно, а при нагревании присоединение его идет неравномерно. Быстрее реагируют с жирами галоидопроизводные йода: ClI – по методу Гюблю и BrI – по методу Ганса, в остальном эти два метода принципиальных различий не имеют.

Реакция с олеиновой кислотой:

$$CH_3(CH_2)_7CH = CH(CH_2)_7COOH + BrI \rightarrow$$
$$\rightarrow CH_3(CH_2)_7CHBrCHI + (CH_2)_7 - COOH$$

В незначительных размерах может происходить замещение галогеном водорода насыщенных групп, и результат анализа получается выше теоретического, поэтому требуется точное соблюдение методики. Масло растворяют в хлороформе, добавляют BrI (раствор Гануса), реакция замещения протекает в темноте в течение часа. Остаток бромистого йода обрабатывают раствором йодата калия, при этом происходит следующая реакция: $BrI + KI \approx KBr + I_2$

Избыток йода, не вступившего в реакцию замещения, примерно более половины от первоначального количества титруют раствором гипосульфита точно известной нормальности.

Ход анализа

Навеску масла от 0,2 до 1,0 г берут в зависимости от ожидаемого йодного числа. При йодном числе 30 – 100 ед. навеска составляет 0,4 – 1,0 г; при 100 – 150 ед. – навеска 0,3 г, при йодном числе более 150 ед. – навеска 0,2 г берется на аналитических весах в малую стеклянную пробирку с плоским дном или бюкс.

При массовых анализах можно использовать микропипетки высокого класса на 0,2 $см^3$ и, зная вес капли, брать навески объемным методом. Стеклянная пробирка с маслом длинным пинцетом помещается на дно чистой сухой конической колбы на 600 $см^3$ с притертой пробкой. В навеску масла осторожно вливают 10 $см^3$ хлороформа, опрокидывают вращательным движением пробирку и растворяют масло. Если масло не растворится и смесь будет непрозрачной, следует добавить новую порцию хлороформа. В колбу из бюретки приливают точно 25 $см^3$ раствора Гануса. Пробки смачивают раствором *KI*, во избежание потерь йода, и плотно закрывают колбы; реакционную смесь тщательно перемешивают и оставляют стоять в темноте на 1 ч при температуре 26 – 30°С или на 2 ч при комнатной температуре. Одновременно проводится контрольное определение реакционной смеси. В контрольную колбу наливают 10 $см^3$ хлороформа, 25 $см^3$ раствора Гануса, перемешивают и также выдерживают в темноте.

По окончании реакции в опытную и контрольную колбы приливают 10 $см^3$ 2%-го раствора йодистого калия, смачивая этим раствором пробку и шлиф колбочки, затем по 50 $см^3$ дистиллированной воды и титруют избыток йода 0,1 н. раствором гипосульфита до желтой окраски, затем прибавляют 1 $см^3$ 1%-го воднорастворимого крахмала и титруют медленно, перемешивая содержимое колбы, до исчезновения голубой окраски. Раствор йодистого калия и воду доливают непосредственно перед определением. Если хлороформ нечистый, йод переходит в раствор медленно, титрование затягивается, результаты неверны.

При массовых анализах следует при титровании соблюдать ту же последовательность образцов, что и при заливке раствором Гануса.

Расчет результатов на 100 г жира: в реакции йод и гипосульфит реагируют в эквивалентных количествах, поэтому

$$X = \frac{(a-b)\cdot H_c \cdot 126{,}9 \cdot 100}{H \cdot 1000},$$

где X – йодное число, г; a – объем гипосульфита, пошедший на титрование опытной колбы, см^3; b – объем гипосульфита, пошедший на титрование контрольной колбы, см^3; H_c – нормальность гипосульфита; *126,9* – атомная масса йода, г; H – навеска, г.

Реактивы

1. Раствор Гануса (бромистого йода): 13 г йода растворяют в 100 см^3 ледяной уксусной кислоты, а затем прибавляют 8,2 г брома. Избыток брома не допускается, так как он усиливает реакцию замещения. Раствор доводят ледяной уксусной кислотой до 1 дм^3 и хранят в темной склянке.
2. Хлороформ обычно загрязняется водой, спиртом, эфиром, ацетоном. Очищают его от примесей в делительной воронке, промывая неоднократно водой, затем хлороформ высушивают хлористым кальцием и отгоняют фракции, кипящие при температуре 60 – 61°С. Чистоту хлороформа проверяют, добавляя к нему раствор йодистого калия, при этом он не должен менять окраску и должен сохраняться прозрачным.
3. 0,1 н. раствор гипосульфита: титр гипосульфита устанавливают по двухромовокислому калию дважды перекристаллизованному из воды и высушенному при температуре 130°С.
4. 1%-й раствор крахмала готовится на насыщенном растворе натрия хлористого.

Определение йодного числа на рефрактометре по Ермакову

Йодное число определяется по показателю преломления масла на рефрактометре. Для расчета используется особая формула или шкала, предложенная автором метода. Метод пригоден для выполнения массовых анализов при малом весе растительной пробы. Широкое применение находит в селекционной и лабораторной практике при наличии 2 – 10 г семенного материала.

Ход анализа

Несколько капель нативного масла получают, пользуясь стальным пресс-стаканом Ермакова или другим приспособлением на лабораторном масляном прессе. Для образцов с высоким содержанием жира создают давление 100 атм., а для образцов с содержанием жира не более 25% – 200 атм. Капли масла собираются специальной пипеткой, носик которой содержит плотно вставленный ватный тампон. Забор и фильтрование масла происходит под слабым вакуумом, который создает резиновая груша.

Для каждого образца получают две пробы масла. Показатель преломления определяют на рефрактометре ИРФ-22. Определения ведут при

температуре 20 – 25°С. Для каждой пробы делают 3 – 5 отсчетов и берут среднее из этих значений, Установив нужную температуру в ультратермостате, открывают верхнюю часть головки прибора и наносят на поверхность измерительной призмы 2 – 3 капли масла. Осторожно закрывают головку и наблюдают полноту заполнения жидкостью зазора между призмами прибора. Определение на приборе проводят в белом свете. Измерение и отсчеты проводят 3 – 4 раза, каждый раз передвигая линию раздела.

Расчет результатов:

$$X = \frac{n_D^{20} - 1{,}4595 \cdot 100}{0{,}0118},$$

где X – йодное число, г; n_D^{20} – показатель преломления данного масла.

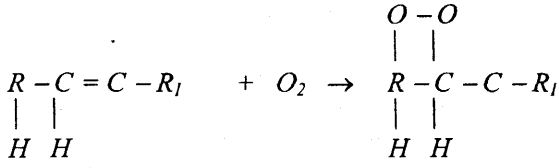
Для быстрого расчета составляют таблицу следующим образом:

Форма записи

Показатель преломления	1,478	1,479	1,480	1,481	1,482	
Йодное число	156,9	165,2	173,7	182,2	190,6	

Определение перекисного числа

Ненасыщенные жирные кислоты под действием кислорода воздуха способны частично окисляться. При этом кислород присоединяется по месту двойных связей, образуя перекиси:



Эта реакция – наиболее распространенный тип прогоркания жиров или содержащих жиры продуктов, круп, концентратов.

Процесс ускоряется в присутствии небольшого количества влаги, при повышенной температуре и наличии света. В отсутствие кислорода окисление не происходит, при хранении в вакууме жиры не прогоркают. В практике для предотвращения прогоркания жиров к ним в небольшом количестве добавляют антиокислители.

Иногда прогоркание жиров связано с деятельностью микроорганизмов, при этом неприятный вкус и запах жира обусловлены появлением кетонов, образующихся при окислении отщепленных жирных кислот. Кетонное прогоркание наблюдается только у низкомолекулярных жирных кислот с числом углеродных атомов не более 12. Наиболее простой случай прогоркания, который часто наблюдается при хранении животных жиров, например сливочного масла, связан с простым омылением жира и образованием при этом свободной масляной кислоты с очень неприятным запахом.

Следовательно, перекисное число служит показателем окислительного изменения жиров и выражается в граммах йода, которое может прореагировать с перекисями, находящимися в 100 г жира.

Принцип метода. Перекиси жира в кислой среде могут реагировать с йодистым калием, при этом в раствор выделяется свободный йод.

$$R-CH-CH-R_1 \quad + \quad 2KI \quad + \quad 2\,CH_3COOH \rightarrow$$
$$\quad\;\; O \;-\; O$$

$$\rightarrow \; R-CH-CH-R_1 \quad + \quad H_2O \; + \; + \quad 2\,CH_3COOK$$
$$\qquad\qquad\quad\;\; I_2$$
$$\qquad\;\; \backslash \;\; /$$
$$\qquad\quad\; O$$

Свободный йод оттитровывают раствором гипосульфита в присутствии крахмала:

$$2\,Na_2S_2O_3 \; + \; I_2 \rightarrow 2\,NaI \; + \; Na_2S_4O_6$$

Ход анализа

Навеску жира от 1 до 3 г, в зависимости от интенсивности процесса прогоркания, берут на аналитических весах в маленькую стеклянную пробирку с плоским дном. Помещают ее в коническую колбу на 150 см^3, доливают 10 см^3 чистого хлороформа, наливая его прямо в пробирку, затем пробирку опрокидывают, перемешивая раствор круговым движением, и растворяют жир. Если жир не растворяется или раствор не осветляется, добавляют новую порцию хлороформа.

В контрольную колбу также приливают 10 см^3 хлороформа, затем в обе колбы при перемешивании добавляют 20 см^3 ледяной уксусной кислоты и 1 см^3 свежеприготовленного раствора йодистого калия. Смесь тщательно перемешивают и оставляют на 3 мин по песочным часам.

Титрование выделившегося йода проводят 0,01 н. раствором гипосульфита, сначала титруют раствор до появления желтой окраски, а затем добавляют 1 см^3 1%-го раствора крахмала и титруют до исчезновения голубой окраски, равномерно и медленно перемешивая раствор.

Расчет результатов производится по формуле

$$П = \frac{(a-b)\cdot н._г \cdot 126{,}9 \cdot 100}{H \cdot 1000},$$

где $П$ – перекисное число, a – объем гипосульфита, пошедший на титрование раствора в опытной колбе, см^3; b – объем гипосульфита, пошедший на титрование раствора в контрольной колбе, см^3; $н._г$ – нормальность раствора гипосульфита; $126{,}9$ – атомная масса йода; H – навеска, г.

Реактив

0,01 н. раствор гипосульфита.

Определение показателя преломления масла

Луч света при переходе из одной среды в другую отличной плотности изменяет направление, т.е. преломляется. Показателем преломления называется отношение синусов углов, образованных лучом, падающим и преломленным, с перпендикуляром к поверхности раздела двух сред. Различные масла имеют характерные для них коэффициенты преломления, что позволяет контролировать чистоту продукта и дает информацию о мере непредельности жирных кислот. Известно, что чем богаче масло непредельными кислотами, тем выше коэффициент преломления.

Величина показателя преломления определяется свойствами преломляющей среды, длиной световой волны и температурой. Поэтому принято определять показатель преломления по отношению к световой волне определенной длины, чаще всего к спектральной линии D натриевого пламени, и обозначать n_D^{20} (число вверху – температура, при которой производилось определение).

Масло предварительно тщательно фильтруется от взвесей и осадков. Определение рефракции проводят при 20°С для жидких масел на рефрактометре ИРФ-20 и при 50°С для твердых жиров на буттер-рефрактометре (здесь не описывается). Показатели преломления измеряются в пределах от 1,30 до 1,70 с точностью до 10^{-4}. На каждый градус температуры ниже или выше заданного уровня вносится поправка для масла $4 \cdot 10^{-4}$.

Порядок работы на рефрактометре.

Проверку правильности работы на рефрактометре и установку «нуля» проводят с помощью стандартных пластинок с известным n_D. Для этого открывают верхнюю головку рефрактометра и на нижнюю призму наносят каплю *а*-монобромнафталина. Накладывают, равномерно и осторожно прижимая на эту каплю пластинку полированной стороной вниз. Появление интерференционных полос свидетельствует о неравномерном контакте пластинки и нижней призмы.

Прибор установлен правильно, если совпадают отсчет по прибору с данными, указанными на пластинке.

Если эти величины не совпадают, то проводят корректировку прибора. Для этого пересечение нитей окуляра точно устанавливают на цифру, которая указана на пластинке, и ключом, приложенным к рефрактометру, вращают винт, расположенный за зрительной трубкой. Границу раздела поля доводят до точки пересечения нитей. В таком положении прибор пригоден к работе. На определение показателя преломления требуется мало времени и всего несколько капель масла. Удобно сочетать этот анализ с определением йодного числа по Ермакову, который не требует проведения дополнительных операций, а только других расчетов по формуле (см. с. 445).

Ход анализа

Сначала включают нагрев воды в ультратермостате, регулируют температуру и скорость прохождения воды через рефрактометр так, чтобы на выходе температура воды была 20 ± 1°С. Поднимают верхнюю головку рефрактометра и оплавленной пипеткой или стеклянной палочкой наносят 2 – 3 капли масла на полированную поверхность нижней головки. Закрывают верхнюю головку прибора так, чтобы жидкость заполнила зазор между призмами.

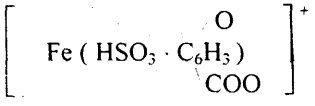
Осветительное зеркало устанавливают так, чтобы отраженный свет равномерно освещал поле зрения, и закрепляют его винтом.

Устанавливают окуляр зрительной трубы так, чтобы нити были резко видны. Амидазу прибора перемещают от малых значений к большим до тех пор, пока поле окуляра не разделится на две части: затемненную и освещенную. Амидазой устанавливают пересечение нитей точно на границу раздела полей – освещенного и затемненного. Берут отсчет по шкале с точностью до тысячного знака, а десятитысячные определяют визуально. Отсчет для одной пробы делают 3 – 4 раза, слегка сдвигая границу раздела вверх и вниз, а затем устанавливая ее точно на пересечении нитей. Для расчетов берут среднее арифметическое из полученных значений.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЖЕЛЕЗА С СУЛЬФАСАЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТОЙ

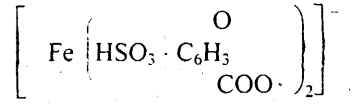
Метод основан на том, что ионы железа образуют в растворе с сульфасалициловой кислотой несколько окрашенных комплексов:

1) в кислой среде при pH 2 – 3 железо образует моносалицинат железа красного цвета:



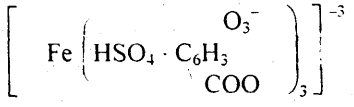
катионная форма;

2) при pH 4–8 образуется:



анионная форма, дисульфосалицилат железа, бурого цвета;

3) при pH 8–11 образуется:



комплексный анион трисульфосалицилата, желтого цвета.

Реакцию образования комплексов используют для определения трехвалентного железа в кислой среде и суммарного содержания двух- и трехвалентного железа в щелочной среде. Присутствие аналогичных комплексов, которые образуют с сульфосалициловой кислотой Ca^{2+}, Mg^{2+}, Al^{+} не мешает определению железа, так как эти комплексы не окрашены. Сильно щелочная среда создается добавлением аммиака. Работа должна производиться в специальной комнате и только под тягой!

Ход анализа

Железо можно определять в растворе после сухого и после мокрого озоления растительного материала. 10 $см^3$ раствора помещают в мерную колбу на 50 $см^3$, добавляют 5 $см^3$ 25%-го раствора сульфосалициловой кислоты в воде. В колбу помещают кусочек индикаторной бумаги конго-рот и добавляют по каплям 25%-й раствор аммиака (переход индикатора из красного в синий). Окраска в щелочной среде из красно-фиолетовой переходит в желтую. Раствор доводят до метки водой. Колориметрируют желто-окрашенные растворы с синим светофильтром через 5 мин после внесения реактивов.

Определению железа могут мешать некоторые примеси, поэтому аммиак должен быть свободен от CO_2, так как карбонаты кальция и магния являются причиной помутнения растворов. При высоком содержании марганца в пробе возможно образование бурого или коричневого осадка гидрата окиси марганца в растворе. В таком случае определение повторяют с новой порцией зольной вытяжки и, чтобы удержать ионы Mn^{4+} в растворе, добавляют 5 $см^3$ 10%-го раствора солянокислого гидроксиламина.

Если в растворе образуется муть от выпадения гидроокисей, то следует увеличить количество прилитой сульфосалициловой кислоты, чтобы растворить их и добавить аммиака до появления сильного запаха.

Реактивы

1. Образцовый раствор и построение *калибровочной шкалы.* Используют железоаммонийные квасцы $[(NH_4)_2SO_4 \cdot Fe_2(SO_4)_3 \cdot 24H_2O]$: навеску 0,864 г квасцов помещают в мерную колбу на 1 $дм^3$, растворяют в 500 $см^3$ 5%-й серной кислоты, добавляют 3 – 4 капли конц. HNO_3, перемешивают и доводят до метки тем же раствором серной кислоты: в 1 $см^3$ такого раствора содержится 0,1 мг железа.

Для приготовления стандартного раствора, полученный образцовый разбавляют водой в 10 раз в день определения. Калибровочную кривую строят, используя следующие концентрации от 0,01 мг до 0,5 мг железа в колбе на 100 $см^3$.

2. 25%-й раствор сульфосалициловой кислоты 25 г кислоты растворяют в 80 $см^3$ дистиллированной воды, доводят 10%-м раствором аммиака до pH 2,0 по индикаторной бумаге, доливают водой до метки.

3. 10%-й раствор гидроксиламина солянокислого.

4. 25%-й раствор аммиака, свободный от CO_2.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ В РАСТЕНИЯХ

Подготовка растительных проб для определения тяжелых металлов

Способ сухой минерализации основан на полном разложении органических веществ путем сжигания проб растений в муфельной печи при контролируемом температурном режиме.

Ход анализа

В чашку или тигель берут измельченную навеску растительной пробы (при определении цинка, меди и марганца – 2 г; кадмия, свинца, никеля, хрома и кобальта – 10 – 15 г), взвешенную с точностью не более 0,01 г, добавляют 96%-й этиловый спирт из расчета 5 $см^3$ спирта на 1 г сухого вещества пробы, накрывают часовым стеклом и оставляют на 24 часа.

Пробы высушивают и затем обугливают на электроплитке до прекращения выделения дыма, не допуская воспламенения. Затем тигли помещают в холодную муфельную печь и, повышая ее температуру на 50°С каждые полчаса, доводят температуру печи до 450°С и продолжают минерализацию в течение 10–15 часов до получения серой золы.

Охлажденную до комнатной температуры золу смачивают по каплям азотной кислотой (1:1), выпаривают на водяной бане, помещают в муфельную печь, доводят ее температуру до 300°С и выдерживают 30 мин. Этот цикл может быть повторен несколько раз до получения золы белого или слегка окрашенного цвета без обугленных частиц.

Одновременно с пробами в каждой серии анализа проводится холостой опыт: тигель (чашка), не содержащий навесок, но с добавлением того же количества реактивов, что и в пробы, участвует во всех операциях (обугливание, озоление, растворение, экстракция).

Аппаратура, реактивы, материалы

1. Весы лабораторные с метрологическими характеристиками (ГОСТ 24104).
2. Муфельная или электропечь сопротивления камерная лабораторная.
3. Электроплитка бытовая по ГОСТ 1419.
4. Баня водяная.
5. Тигли или чашки кварцевые (ГОСТ 19908).
6. Стекла часовые.
7. Цилиндры мерные объемом на 10 и 50 $см^3$ (ГОСТ 1770).
8. Пипетка объемом на 1 $см^3$ по ГОСТу 20292.
9. Спирт этиловый ректификованный (ГОСТ 18300).
10. Кислота азотная (ГОСТ 11125, «ос.ч.»), раствор в бидистиллированной воде (1:1) по объему.

Способ мокрой минерализации основан на полном разложении растительной пробы при нагревании в смеси концентрированных азотной и серной кислот и перекиси водорода.

Ход анализа

Навеску измельченной растительной пробы (указана в способе сухой минерализации) переносят в колбу Кьельдаля, добавляют азотную кислоту из расчета 10 $см^3$ на каждые 5 г пробы и выдерживают не менее 15 мин. В колбы вносят 2 – 3 стеклянных шарика, закрывают воронкой и нагревают на электроплитке вначале слабо, затем сильнее, упаривая содержимое колбы до объема около 5 $см^3$. Колбу охлаждают, добавляют 10 $см^3$ азотной кислоты, упаривают до 5 $см^3$. Этот цикл повторяют несколько раз до прекращения выделения бурых паров.

В колбу вносят 10 $см^3$ азотной кислоты, 2 $см^3$ перекиси водорода на каждые 5 г пробы. Не допускается изменять последовательность добавления реагентов: перекись водорода всегда вносится последней. Содержимое колбы упаривают до 5 $см^3$. Минерализацию считают законченной, если раствор после охлаждения остается бесцветным. При появлении желтой или коричневатой окраски в колбу добавляют 5 $см^3$ азотной кислоты и 2 $см^3$ перекиси водорода и нагревают до прекращения выделения бурых паров и полного обесцвечивания раствора. В охлажденную колбу вносят 10 $см^3$ бидистиллированной воды и кипятят в течение 10 – 15 мин.

Одновременно с пробами в каждой серии анализа проводится холостой опыт.

Аппаратура, реактивы и материалы

1. Весы лабораторные с метрологическими характеристиками по ГОСТу 24104.
2. Электроплитка с гнездами для колб Кьельдаля.
3. Колбы Кьельдаля объемом на 50 или 100 $см^3$ по ГОСТу 25336.
4. Цилиндры мерные объемом на 10, 25 и 50 $см^3$ по ГОСТу 1770.
5. Воронки лабораторные по ГОСТу 25336.
6. Шарики стеклянные.
7. Кислота азотная концентрированная по ГОСТу 11125, «ос.ч.».
8. Перекись водорода (пергидроль) по ГОСТу 10929, «х.ч.».
9. Вода бидистиллированная.

Приготовление растворов для анализа. В тигель (колбу, чашку) с минерализованной любым из описанных способов растительной пробой добавляют 5 – 10 $см^3$ азотной кислоты (1:1) и нагревают на водяной бане или электроплитке до образования влажных солей, растворяют в 10 – 15 $см^3$ 1%-й азотной кислоты, переносят в мерную колбу объемом 25 $см^3$ и доводят до метки тем же раствором кислоты.

В полученных растворах определяют содержание тяжелых металлов методом пламенной атомной абсорбции. В некоторых случаях растворы разбавляют или концентрируют (см. на с. 239 – 240).

Валовое содержание микроэлементов

Методы пробоподготовки для определения валового содержания микроэлементов основаны на полном разложении пробы растений и переведении ее в раствор.

Для разложения растений применяют два метода: сухое озоление и кислотное сжигание (мокрое озоление) (с. 450 – 451). Описанный способ сухого озоления используют для определения железа, марганца, цинка, меди, кобальта, никеля, свинца, кадмия, хрома. После мокрого озоления кроме названных элементов возможно определение молибдена. При использовании фотометрических методов определения золу и остаток от мокрого сжигания проб обрабатывают 0,3 М раствором соляной кислоты. Золу в тигле осторожно смачивают 0,3 М соляной кислотой, затем приливают 5 $см^3$ этого же раствора. Тигли помещают на водяную баню и нагревают в течение 30 мин. Полученный раствор переносят через воронку в градуированные пробирки объемом 20 $см^3$. Тигель обмывают бидистиллированной водой и доводят ею раствор до метки.

Способы подготовки растений для определения, бора, ртути, селена и мышьяка, а также способ сухого озоления для молибдена описаны в методиках определения соответствующих элементов.

Аппаратура, реактивы, материалы

1. Баня водяная лабораторная.
2. Цилиндр мерный объемом 5 $см^3$ по ГОСТу 1770.
3. Пробирки с притертыми пробками объемом 20 $см^3$ по ГОСТу 1770.
4. Кислота соляная по ГОСТу 14261 «ос.ч.». раствор в бидистиллированной воде с массовой долей 0.3 М.

Определение содержания цинка в растениях атомно-абсорбционным методом

Метод основан на измерении поглощения электромагнитного резонансного излучения свободными атомами цинка.

Содержание цинка в разложенных и переведенных в раствор пробах растений определяют атомно-абсорбционным методом напрямую в пламени ацетилен – воздух. Техника проведения измерений и подготовки стандартных растворов сравнения приведена в разделе I, на с. 14–22.

Определение содержания цинка в растениях дитизоновым методом

Метод основан на получении в нейтральной среде окрашенного комплекса цинка с дитизоном пурпурно-красного цвета, экстрагировании его четыреххлористым углеродом и измерении оптической плотности экстракта. Мешающее влияние меди, железа, свинца, кобальта, никеля и некоторых других тяжелых металлов устраняют добавлением тиосульфата.

Ход анализа

Перед анализом растворы золы разбавляют для сена, соломы, корнеплодов в 10 раз, для зерна в 20 раз. Аликвоту 10 $см^3$ разбавленного анализируемого раствора переносят в делительную воронку объемом 50 $см^3$, добавляют 1–2 капли метилового красного и нейтрализуют 10%-м раствором аммиака до появления желтой окраски. Приливают в воронку 5 $см^3$ ацетатного буферного раствора, 1 $см^3$ 25%-го раствора тиосульфата натрия и тщательно перемешивают. Затем приливают из бюретки или пипетки 20 $см^3$ 0,0012%-го раствора дитизона в CCl_4 и встряхивают воронку 1 мин. После разделения фаз органический слой сливают в кювету с шириной поглощающего слоя 1 $см^3$ и измеряют оптическую плотность экстракта при 538 нм (зеленый светофильтр) относительно нулевого раствора сравнения.

Калибровочную шкалу готовят в интервале концентраций цинка от 0 (нулевой раствор) до 5 мкг в 20 $см^3$ CCl_4. Для этого в серию делительных воронок приливают 0.0; 1.0; 2.0; 3,0; 4.0; 5,0 $см^3$ стандартного раствора с содержанием цинка 1 $мкг/см^3$. Доводят объем до 10 $см^3$ добавлением 0,3 М раствора соляной кислоты, нейтрализуют 10%-м раствором аммиака и далее поступают так же, как при анализе исследуемых растворов. *Градуировочный график* строят в координатах D – C. (значение оптической плотности откладывают на оси ординат, концентрацию цинка в растворе – по оси абсцисс).

Концентрацию цинка в исследуемых растворах находят по градуировочному графику и рассчитывают содержание элемента в растениях по формуле

$$Zn,\ мг/кг = \frac{C \cdot V_1}{V_2 \cdot m},$$

где C – концентрация цинка, мкг/10 $см^3$, найденная по графику; V_1 – объем исходного анализируемого раствора, $см^3$; V_2 – объем аликвоты, $см^3$; m – навеска пробы растения.

Приготовление реактивов см. на с. 242.

Дополнительно готовят: 0.3 М раствор соляной кислоты: 24,7 $см^3$ концентрированной соляной кислоты разбавляют бидистиллированной водой (500–700 $см^3$). После охлаждения доводят бидистиллированной водой до 1000 $см^3$.

Аппаратура, материалы – см. пункты 1–16 на с. 244.

Определение содержания меди в растениях атомно-абсорбционным методом

Метод основан на измерении поглощения электромагнитного резонансного излучения свободными атомами меди.

Содержание меди в разложенных и переведенных в раствор пробах растений определяют атомно-абсорбционным методом напрямую в пламени ацетилен – воздух. Техника проведения измерений и подготовки стандартных растворов сравнения приведена в разделе I, на с. 14 – 22.

Определение содержания меди в растениях фотометрическим методом с использованием диэтилдитиокарбамата свинца

Метод основан на получении окрашенного комплекса меди с диэтилдитиокарбаматом свинца, экстракции его четыреххлористым углеродом и измерении оптической плотности экстракта.

Ход анализа

Аликвоту 10 см^3 анализируемого раствора помещают в делительную воронку объемом 50 см^3, добавляют 5 см^3 10%-го раствора лимоннокислого аммония, 1–2 капли индикатора фенолфталеина и нейтрализуют разбавленным раствором аммиака до слабо-розовой окраски. Затем из бюретки приливают 15 см^3 раствора диэтилдитиокарбамата свинца в четыреххлористом углероде и энергично встряхивают в течение 2 мин. После разделения фаз нижний (органический) слой сливают в пробирку с притертой пробкой или непосредственно в кювету с толщиной просвечивающего слоя 2 см^3. Фотометрируют экстракт при длине волны 436 нм (синий светофильтр) относительно четыреххлористого углерода.

Калибровочную шкалу готовят в интервале концентраций меди от 0 (нулевой раствор) до 2 мкг в 15 см^3 CCl_4. Для этого в серию делительных воронок приливают 0,0; 0,25; 0,5; 1,0; 2,0 см^3 стандартного раствора с содержанием меди 10 мкг/см^3. Доводят объем до 10 см^3 0,3 М раствором соляной кислоты. Затем в делительные воронки добавляют по 5 см^3 10%-го раствора лимоннокислого аммония, 1–2 капли индикатора фенолфталеина и нейтрализуют разбавленным раствором аммиака до слабо-розовой окраски. Далее поступают так, как при анализе исследуемых проб. *Градуировочный график* строят в координатах D – C (значение оптической плотности откладывают на оси ординат, концентрацию меди в растворе – на оси абсцисс).

Концентрацию меди в исследуемых растворах находят по градуировочному графику и рассчитывают содержание элемента в пробе по формуле

$$Cu,\ мг/кг = \frac{C \cdot V_1}{V_2 \cdot m},$$

где C – концентрация меди, мкг/15 см^3, найденная по графику; V_1 – объем исходного анализируемого раствора; V_2 – объем аликвоты; m – навеска пробы растений.

Приготовление реактивов см. с. 246.

Аппаратура, реактивы, материалы

1. – 3. см. с. 247.

4. Воронки делительные объемом 50 и 1000 см^3 по ГОСТу 25336.

5. Пипетки объемом 1, 2, 5, 10 см^3 по ГОСТ 20292.

6. – 11. см. с. 247, исключая п. 8.

12. Кислота соляная по ГОСТу 14261 «ос.ч.», раствор в бидистиллированной воде с массовой долей 0,3 М.

13. – 19. см. с. 247, исключая п. 17.

Определение содержания марганца в растениях атомно-абсорбционным методом

Метод основан на измерении поглощения электромагнитного резонансного излучения свободными атомами марганца.

Содержание марганца в растворах после разложения проб растений определяют атомно-абсорбционным методом напрямую в пламени ацетилен – воздух. Техника проведения измерений и подготовки стандартных растворов сравнения приведена в разделе I на с. 14 – 22 и с. 249.

Определение содержания марганца в растениях фотометрическим методом с использованием персульфата аммония

Метод основан на окислении марганца до марганцовой кислоты персульфатом аммония в присутствии азотнокислого серебра в качестве катализатора и измерении оптической плотности окрашенного в розово-фиолетовый цвет раствора. Мешающее влияние хлоридов устраняют выпариванием анализируемой вытяжки досуха с азотной и серной кислотами. С помощью фосфорной кислоты мешающее определению железо связывается в бесцветный комплекс.

Ход анализа

Аликвоту анализируемого раствора 5 – 15 $см^3$ помещают в термостойкий стакан объемом 50 $см^3$, прибавляют 5 $см^3$ концентрированной азотной кислоты и 2 $см^3$ 30%-й перекиси водорода и выпаривают на плитке досуха. Затем добавляют 3 $см^3$ только концентрированной азотной кислоты и снова выпаривают досуха.

К сухому остатку добавляют 25 $см^3$ 10%-й серной кислоты и нагревают на плитке до его полного растворения. Затем добавляют 15 $см^3$ бидистиллированной воды, 2 $см^3$ концентрированной ортофосфорной кислоты, 2 $см^3$ 1%-го раствора азотнокислого серебра и нагревают 5 – 10 мин. Если раствор помутнеет, то его следует довести до кипения и профильтровать через фильтр «синяя лента».

К прозрачному горячему раствору в стакане прибавляют небольшими порциями 2 г персульфата аммония (не допуская вспенивания раствора), осторожно перемешивают стеклянной палочкой. После добавления каждой порции окислителя продолжают нагревание почти до кипения. После появления устойчивой розово-фиолетовой окраски и прекращения выделения пузырьков озона раствор кипятят еще 1 – 2 мин. После охлаждения раствор переносят в мерную колбу объемом 50 $см^3$ и доливают бидистиллированной водой до метки.

Фотометрируют раствор в кювете с толщиной просвечивающего слоя 1 или 2 см при длине волны 528 – 536 нм или зеленом светофильтре относительно нулевого раствора сравнения.

Приготовление калибровочной шкалы и построение градуировочного графика описано на с. 250.

Содержание марганца в растениях вычисляют по формуле

$$Mn, мг/кг = \frac{C \cdot V_1}{V_2 \cdot m}$$

где C – концентрация марганца, мкг/50 см^3, найденная по графику; V_1 – объем исходного анализируемого раствора, см^3; V_2 – объем аликвоты; m – навеска пробы растений

Реактивы

1. Стандартный раствор марганца с содержанием элемента 100 мкг в 1 см^3 (техника приготовления описана на с. 19).

Аппаратура, материалы, реактивы

1. – 5. см. с. 250 – 251.
6. Стаканы объемом 50 см^3 по ГОСТ 25336.
7. – 18. см. с. 251.

Определение содержания марганца в растениях фотометрическим методом с использованием формальдоксима

Метод основан на получении окрашенного комплекса марганца с формальдоксимом (красновато-коричневого цвета) и измерении оптической плотности раствора. Окрашенный комплекс марганца образуется в щелочной среде, которую создают с помощью аммиачного буферного раствора. Для разрушения комплексов железа, меди, никеля, кобальта с формальдоксимом и удержании названных элементов в растворе (чтобы избежать соосаждения марганца) добавляют аскорбиновую кислоту и трилон Б.

Ход анализа

Аликвоту 5 см^3 анализируемого раствора помещают в сухую коническую колбу объемом 100 см^3. Добавляют 10 см^3 рабочего раствора формальдоксима и 30 см^3 рабочего аммиачного буферного раствора. После добавления каждого реактива тщательно перемешивают содержимое колбы. Затем колбу оставляют на 5 мин для полного развития окраски комплекса марганца с формальдоксимом.

После этого приливают 5 см^3 маскирующего раствора, перемешивают и оставляют на 10 мин для разрушения комплекса формальдоксима с железом. Раствор фотометрируют не позже, чем через 30 мин после добавления маскирующего реагента (окраска комплекса с течением времени ослабляется) в кювете с толщиной просвечивающего слоя 1 см относительно дистиллированной воды при длине волны 490 нм (сине-зеленый светофильтр).

Приготовление калибровочной шкалы и построение градуировочного графика описано на с. 252.

Содержание марганца в растениях вычисляют по формуле

$$Mn,\ мг/кг = \frac{C \cdot V_1}{V_2 \cdot m}$$

где C – концентрация марганца, мкг/50 см^3, найденная по графику; V_1 – объем исходного анализируемого раствора, см^3; V_2 – объем аликвоты; m – навеска пробы растений.

Приготовление реактивов см. с. 252.

Аппаратура, материалы, реактивы
1. – 13. см. с. 253.

Определение содержания кобальта в растениях атомно-абсорбционным методом

Метод основан на измерении поглощения электромагнитного резонансного излучения свободными атомами кобальта.

Содержание кобальта в растениях после их разложения и переведения в раствор можно определять атомно-абсорбционным методом напрямую в пламени ацетилен – воздух. Техника проведения измерений и подготовки стандартных растворов сравнения приведена в разделе I на с. 14 – 22 и с. 254 – 255. Однако с целью повышения чувствительности определения и устранения мешающего влияния матрицы предварительно проводят экстракционное концентрирование элемента. Для получения устойчивого комплекса кобальта наиболее часто используют 2-нитрозо-1-нафтол, экстрагируют соединение изоамиловым эфиром уксусной кислоты и в экстракте проводят определение кобальта атомно-абсорбционным методом.

Ход анализа

Аликвоту анализируемого раствора 20 см^3 помещают в делительную воронку объемом 100 см^3 и проводят анализ по описанию на с. 254–255.

Калибровочную шкалу готовят в интервале концентраций от 0 до 5 мкг/5 см^3. Для этого в делительные воронки помещают 0; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 см^3 стандартного раствора сравнения с содержанием кобальта 1 мкг/см^3. Добавляют бидистиллированной воды до 20 см^3. Далее проводят все операции, как указано выше при определении анализируемого раствора.

Приготовление реактивов см. с. 255.

Аппаратура, реактивы, материалы – см. с. 255.

Определение содержания кобальта в растениях фотометрическим методом с использованием 2-нитрозо-1-нафтола

Метод основан на получении окрашенного комплекса кобальта с 2-нитрозо-1-нафтолом и измерении оптической плотности раствора. С помощью цитрата устраняют мешающее влияние двухвалентного железа. Окрашенные соединения трехвалентного железа и меди с 2-нитрозо-1-нафтолом разрушают смесью азотной и фосфорной кислот.

Ход анализа

Аликвоту 10 $см^3$ анализируемого раствора помещают стакан объемом 50 $см^3$, добавляют 2 $см^3$ маскирующего раствора и 1 $см^3$ 0,1%-го раствора 2-нитрозо-1-нафтола. Содержимое стакана доводят до кипения. После охлаждения анализируемого раствора в стакан добавляют 3 $см^3$ смеси азотной и фосфорной кислот и сразу же перемешивают. Содержимое переносят в градуированные пробирки объемом 20 $см^3$ и доводят до метки дистиллированной водой. Фотометрируют растворы относительно дистиллированной воды в кюветах с толщиной просвечивающего слоя 2 см при длине волны 520 нм (зеленый светофильтр).

Если содержание кобальта в анализируемом растворе ниже предела обнаружения, то для получения значимых величин можно сконцентрировать раствор упариванием. Для этого аликвоту анализируемого раствора 20 $см^3$ помещают в термостойкий стакан и приливают несколько капель концентрированной азотной кислоты. Содержимое упаривают на песчаной бане или закрытой электроплитке досуха. К осадку приливают 6 $см^3$ разбавленной соляной кислоты, доводят раствор до кипения, добавляют 2 $см^3$ маскирующего раствора и кипятят 1 мин. Реакция раствора должна быть в пределах от 5,6 до 6,0. При необходимости ее корректируют с помощью раствора уксуснокислого натрия. Затем приливают 1 $см^3$ 0,1%-го раствора 2-нитрозо-1-нафтола, 5 $см^3$ дистиллированной воды и доводят до кипения. После охлаждения анализируемого раствора в стакан добавляют 3 $см^3$ смеси азотной и фосфорной кислот и сразу же перемешивают. Содержимое переносят в градуированные пробирки и далее проводят все операции, как указано выше при определении анализируемого раствора.

Приготовление калибровочной шкалы и построение градуировочного графика описано на с. 256.

Содержание кобальта в растениях в мг/кг вычисляют по формуле

$$Co,\ мг/кг = \frac{C \cdot V_1}{V_2 \cdot m},$$

где C – концентрация кобальта, мкг/20 $см^3$, найденная по графику; V_1 – объем исходного анализируемого раствора; V_2 – объем аликвоты; m – навеска пробы растений, г.

Приготовление реактивов см. с. 256.

Аппаратура, реактивы, материалы

1. – 3. см. с. 257.
4. Пипетки объемом 1, 2, 5, 10, 25, 50 $см^3$ по ГОСТу 20292.
5. Стаканы объемом 50, 500 $см^3$ по ГОСТу 25336.
6. – 17. см. с. 257.

Определение содержания молибдена в растениях фотометрическим методом с использованием цинк-дитиола

Метод основан на получении окрашенного комплекса молибдена с дитиолом, экстракции его хлороформом и измерении оптической плотности экстракта (экстракт окрашен в зеленый цвет). Устранение мешающего влияния железа достигается введением аскорбиновой кислоты. Добавление лимонной кислоты предотвращает взаимодействие дитиола с вольфрамом. Мешающее влияние меди устраняют путем связывания ее в комплекс с йодидом.

Приготовление раствора золы. Золу в тигле смачивают бидистиллированной водой, добавляют 2 $см^3$ хлорной кислоты и нагревают на электроплитке до прекращения выделения дыма. Тигель с обработанной золой помещают в холодный муфель, нагревают до 500°С, и выдерживают при этой температуре 15 мин. После охлаждения тигля в него приливают 25 $см^3$ 14%-й соляной кислоты и выдерживают на кипящей водяной бане 10 – 20 мин. Затем раствор переносят в мерную колбу объемом 50 $см^3$. Тигель обмывают 14%-й соляной кислотой и ею доводят раствор до метки.

Ход анализа

Аликвоту 25 $см^3$ анализируемого раствора помещают в делительную воронку вместимостью 100 $см^3$, добавляют 0,5 $см^3$ 1%-го раствора железоаммонийных квасцов, 2 $см^3$ маскирующего раствора и оставляют стоять 2 мин. Затем приливают 3 $см^3$ 50%-го раствора иодистого калия, снова выдерживают 2 мин и добавляют 2 $см^3$ 0,3%-го раствора цинк-дитиола. После добавления каждого из реактивов раствор тщательно перемешивают. Затем добавляют 4 $см^3$ хлороформа и встряхивают в течение 2 мин. После разделения фаз нижний органический слой фильтруют через сухой бумажный фильтр в пробирку с притертой пробкой или непосредственно в кювету с толщиной просвечивающего слоя 2 см.

Оптическую плотность экстрактов измеряют относительно хлороформа при длине волны 680 нм (красный светофильтр). При необходимости использования кювет с толщиной просвечивающего слоя 3 см объемы вытяжки и реактивов увеличивают в 1,5 раза, а хлороформа – в 2,5 раза.

Калибровочную шкалу строят в интервале концентраций от 0 до 5,0 мкг/V, где V – объем хлороформа. Для этого в делительные воронки помещают 0; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 $см^3$ стандартного раствора сравнения молибдена с концентрацией элемента 1 мкг/$см^3$, добавляют по 1 $см^3$ 1%-го раствора железоаммонийных квасцов и доводят объем до 25 $см^3$ 14%-м раствором соляной кислоты. Далее проводят все операции, как указано выше для анализируемого раствора.

Градуировочный график строят в координатах D – C (значение оптической плотности откладывают на оси ординат, концентрацию молибдена в растворе – на оси абсцисс.

Содержание молибдена в растениях в мг/кг вычисляют по формуле

$$Mo,\ мг/кг = \frac{C \cdot V_1}{V_2 \cdot m},$$

где C – концентрация молибдена, мкг/V $см^3$, найденная по графику; V_1 – объем исходного анализируемого раствора; V_2 – объем аликвоты; m – навеска пробы растений.

Приготовление реактивов см. с. 262.

Аппаратура, реактивы, материалы

1. – 4. см. с. 262.

5. Пипетки объемом 1, 2, 5, 25 $см^3$ (ГОСТ 20292):

6. – 22. см. с. 262.

Определение содержания молибдена в растениях фотометрическим роданидным методом

Метод основан на извлечении соединений элемента из почвы, получении молибден-роданидного комплекса, окрашенного в слабо-оранжево-желтый цвет, экстракции окрашенного комплекса органическим растворителем (*н*-бутанолом или изоамиловым спиртом) и измерении оптической плотности экстракта. Молибден-роданидный комплекс образуется в кислой среде в присутствии восстановителя. Для устранения влияния мешающих элементов (связывания в комплекс алюминия, титана и железа) добавляют раствор фторида натрия. Для предотвращения восстановления молибдена до более низких степеней валентности, чем + 5, в анализируемый раствор вводят нитрат натрия.

Ход анализа

Аликвоту 25 $см^3$ анализируемого раствора помещают в мерную колбу объемом 50 $см^3$, прибавляют 15 $см^3$ 4%-го раствора фторида натрия и 5 $см^3$ 20%-го раствора нитрата натрия, доводят водой до метки и хорошо перемешивают. Содержимое колбы переносят в делительную воронку объемом 100 $см^3$ (стенки колбы обмывают 2–3 $см^3$ воды). Далее проводят все операции, как при определении молибдена в почвенных вытяжках (см. с. 264 – 265).

Содержание молибдена в растениях в мг/кг вычисляют по формуле

$$Mo,\ мг/кг = \frac{C \cdot V_1}{V_2 \cdot m},$$

где C – концентрация молибдена, мкг/20 см^3, найденная по графику; V_1 – объем исходного анализируемого раствора; V_2 – объем аликвоты; m – навеска пробы растения.

Приготовление реактивов см. с.265 – 266.

Аппаратура, реактивы, материалы (см. с. 266).

Определение содержания бора в растениях фотометрическим методом с использованием хинализарина

Метод основан на получении окрашенного комплекса бора с хинализарином (голубого цвета) и измерении оптической плотности раствора.

Озоление и приготовление анализируемого раствора. Разложение растений для определения бора проводят сухим озолением. Мокрое сжигание невозможно применять из-за улетучивания соединений бора в кислых растворах.

Навеску 2 г сухой измельченной растительной пробы помещают в платиновый или кварцевый тигель, добавляют 0,1 г окиси кальция и перемешивают. Ставят в холодную муфельную печь и обугливают образцы при температуре 200 – 250°С до прекращения выделения дыма (дверца печи во время обугливания приоткрыта). Затем повышают температуру до 450 – 500°С и проводят озоление до получения белой или светло-серой золы. В тигель после его охлаждения приливают осторожно из бюретки 10 см^3 1 н. раствора серной кислоты, тщательно перемешивают палочкой из кварцевого или безборного стекла и, не фильтруя, переносят в пробирку из такого же стекла. Пробирку закрывают пробкой и оставляют для отстаивания осадка.

Ход анализа

Аликвоту 1 см^3 отстоявшегося анализируемого раствора переносят в пробирку из кварцевого стекла или стекла марок ДГ-29, ХУ-КЛП, С-90, приливают из бюретки 9 см^3 раствора хинализарина, тщательно перемешивают и оставляют на 2 ч в темном месте.

Оптическую плотность измеряют в кюветах с толщиной просвечивающего слоя 2 см и при длине волны 620 нм или оранжево-красном светофильтре относительно нулевого раствора сравнения. При смене раствора в кювете его не сливают, а отсасывают с помощью водоструйного насоса через полиэтиленовый капилляр, чтобы избежать растекания концентрированной серной кислоты по стенкам кюветы.

Приготовление калибровочной шкалы и построение *градуировочного графика* описано на с. 268.

Рассчитывают содержание бора в растениях в мг/кг по формуле

$$B, мг/кг = \frac{C \cdot V_0}{V_1 \cdot m},$$

где C – концентрация бора, найденная по графику, мкг/10 см^3; V_0 – объем исходного анализируемого раствора, см^3; V_1 – объем вытяжки, взятый для анализа, см^3; m – навеска, г.

Приготовление реактивов

1. Стандартный раствор бора – см. с. 268.
2. Хинализарина, запасной раствор – см. с. 268.
3. 1 н. раствор H_2SO_4 – 28 см^3 концентрированной серной кислоты (d 1,84) разбавить бидистиллированной водой до 1000 см^3.

Аппаратура, и материалы (в дополнение к п. 1,4, 5, 8, 10 на с. 269).

1. Муфельная печь.
2. Тигли платиновые или кварцевые.
3. Бюретка объемом 50 см.
4. Кальция оксид.

Определение содержания бора в растениях фотометрическим методом с использованием кармина

Метод основан на получении окрашенного комплекса бора с кармином (синего цвета) и измерении оптической плотности раствора. Добавление гипофосфита позволяет устранить мешающее влияние железа (III).

Ход анализа

Аликвоту 1 см^3 отстоявшегося анализируемого раствора помещают в пробирку из кварцевого или безборного стекла, добавляют 1 см^3 10%-го раствора гипофосфита кальция и 18 см^3 раствора кармина. Содержимое пробирки тщательно перемешивают и оставляют на 2 ч в темном месте. Оптическую плотность измеряют в кювете с толщиной поглощающего слоя 2 см при длине волны 610 нм или оранжево-красном светофильтре.

Приготовление калибровочной шкалы и построение градуировочного графика описано на с. 271.

Рассчитывают содержание бора в растениях в мг/кг по формуле:

$$B, мг/кг = \frac{C \cdot V_0}{V_1 \cdot m},$$

где C – концентрация бора, найденная по графику, мкг/20 см^3; V_0 – объем исходного анализируемого раствора, см^3; V_1 – объем вытяжки, взятый для анализа, см^3; m – навеска, г.

Приготовление реактивов см. с. 271.

Аппаратура и материалы (в дополнение к п. 1,2, 4, 5, 9 на с. 269).

1. Бюретка объемом 50 см^3.

Определение содержания свинца в растениях атомно-абсорбционным методом

Метод основан на измерении поглощения электромагнитного резонансного излучения свободными атомами свинца.

Содержание свинца в разложенных и переведенных в раствор пробах растений определяют атомно-абсорбционным методом напрямую в пламени ацетилен – воздух. Техника проведения измерений и подготовки стандартных растворов сравнения приведена разделе I на с. 14 – 22.

Определение содержания свинца в растения фотометрическим методом с использованием дитизона

Метод основан на получении окрашенного комплекса свинца с дитизоном (карминово-красного цвета), экстракции его четыреххлористым углеродом и измерении оптической плотности экстракта. Оптимальные условия образования и экстрагирования комплекса pH 8 – 10. Осаждение легко гидролизующихся в щелочной среде ионов (Fe(III), Al, Ti(IY)) предотвращается добавлением лимоннокислого аммония. Мешающие влияния большой группы элементов (Zn, Cu, Ni, Co и др.) устраняются с помощью раствора цианида калия (цианиды образуют прочные комплексы с этими элементами). Добавление гидроксиламина увеличивает устойчивость раствора дитизона, препятствует его окислению.

Ход анализа

В делительную воронку объемом 100 $см^3$ помещают аликвоту исследуемого раствора 20 $см^3$, приливают 10 $см^3$ 10%-го раствора лимоннокислого аммония и 1 – 2 капли индикатора тимолового синего и нейтрализуют 10%-м раствором аммиака до pH 9–10 (синяя окраска индикатора). Затем добавляют 1 $см^3$ 20%-го раствора гидроксиламина и 5 $см^3$ 10%-го раствора KCN. После добавления каждого из реактивов, раствор тщательно перемешивают. Приливают в воронку 5 $см^3$ 0,001%-го раствора дитизона в CCl_4 и встряхивают. После разделения фаз экстракт сливают в другую делительную воронку. Экстрагирование повторяют до прекращения изменения окраски раствора дитизона.

Все экстракты объединяют. В делительную воронку с объединенными экстрактами приливают 10 $см^3$ 0,5%-го раствора KCN и встряхивают. Водную фазу сливают, а органический экстракт еще раз промывают раствором цианистого калия. После этого к органическому экстракту в делительную воронку добавляют 10 $см^3$ бидистиллированной воды и встряхивают. Водный слой отбрасывают.

Отмытый органический экстракт переносят в мерную колбу объемом 25 $см^3$, доливают до метки чистым CCl_4 и перемешивают. Оптическую плотность измеряют при длине волны 520 нм или зеленом светофильтре относительно чистого CCl_4.

Калибровочную шкалу строят в интервале концентраций от 0 до 50 мкг свинца в 25 $см^3$ раствора. Для этого в делительные воронки помещают 0; 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 $см^3$ стандартного раствора сравнения свинца с концентрацией 10 мкг/$см^3$, уравнивают растворы до объема 20 $см^3$ бидистиллированной водой, добавляют по 10 $см^3$ 10%-го раствора лимоннокислого аммония и нейтрализуют аммиаком до pH 9. Затем приливают по 1 $см^3$ 20%-го раствора гидроксиламина, по 5 $см^3$ 10%-го раствора цианистого калия, по 5 $см^3$ 0,001%-го раствора дитизона в CCl_4 и встряхивают. Органические фазы сливают в мерные колбы объемом 25 $см^3$. Экстрагирование повторяют до прекращения изменения окраски раствора дитизона. Колбы доводят до метки четыреххлористым углеродом. Концентрация свинца в экстрактах составляет соответственно 0, 5,0; 10,0; 20,0; 30,0; 40,0; 50,0 мкг/25 $см^3$ По результатам фотометрирования рабочих стандартных растворов сравнения строят *градуировочный график*.

Рассчитывают содержание свинца в растениях в мг/кг по формуле:

$$Pb,\ мг/кг = \frac{C \cdot V_0}{V_1 \cdot m},$$

где C – концентрация свинца, найденная по графику, мкг/25 $см^3$; V_0 – объем исходного анализируемого раствора, $см^3$; V_1 – объем анализируемого раствора, $см^3$; m – навеска, г.

Приготовление реактивов – в дополнение к пунктам 1.–3. и 5. на с. 275–276.

1. 10%-й раствор цианистого калия: 10 г реактива растворяют в бидистиллированной воде в объеме 100 $см^3$ и очищают дитизоном, (см. с. 234 – 238). Приготовленный раствор хранят в полиэтиленовой посуде. 0,5%-й раствор цианистого калия – 5 $см^3$ очищенного 10%-го раствора помещают в мерную колбу объемом 100 $см^3$ и доводят до метки бидистиллированной водой.
2. 20%-й раствор гидроксиламина солянокислого: 20 г реактива растворить в бидистиллированной воде и довести объем до 100 $см^3$. Полученный раствор очистить дитизоном (см. с. 234–238).
3. Гидроксиламин солянокислый (ГОСТ 5456, «ч.д.а.»).

Аппаратура и материалы (указаны на с. 276).

Определение содержания кадмия в растениях атомно-абсорбционным методом

Метод основан на измерении поглощения электромагнитного резонансного излучения свободными атомами кадмия.

Содержание кадмия в растениях после их разложения и переведения в раствор можно определять атомно-абсорбционным методом напрямую в пламени ацетилен – воздух. Способы подготовки стандартных растворов сравнения и техника проведения измерений приведена в разделе в разделе I на с. 14 – 22.

Определение содержания кадмия в растениях фотометрическим методом с использованием дитизона

Метод основан на получении в сильнощелочной среде окрашенного комплекса кадмия с дитизоном (красного цвета), экстракции его четыреххлористым углеродом и измерении оптической плотности экстракта. Катионы мешающих элементов удаляют предварительной экстракцией дитизоном в кислой среде. На результаты определения кадмия оказывает влияние цинк при его содержании в анализируемом растворе в 500 и более раз превышающем концентрацию кадмия. Осаждение легко гидролизующихся в щелочной среде ионов (Fe(III), Al, Ti(IY)) предотвращается добавлением тартрата калия-натрия. Введение в раствор гидроксиламина позволяет защитить раствор дитизона от действия окислителей.

Ход анализа

В делительную воронку объемом 150 см помещают аликвоту анализируемого раствора (20 $см^3$), если необходимо, то подкисляют 10%-й соляной кислотой до pH 2,0; и далее проводят анализ как описано на с. 277. Только при добавлении 40%-го раствора NaOH при аликвоте анализируемого раствора 20 $см^3$, его объем равен 4–5 $см^3$, а не 10–12 $см^3$ – как при анализе почвы.

Приготовление калибровочной шкалы и построение *градуировочного графика* описано на с. 277.

Рассчитывают содержание кадмия в растениях в мг/кг по формуле

$$Cd,\ мг/кг = \frac{C \cdot V_0}{V_1 \cdot m}$$

где C – концентрация кадмия, найденная по графику, мкг/25 $см^3$; V_0 – объем исходного анализируемого раствора, $см^3$; V_1 – аликвота анализируемого раствора, $см^3$; m – навеска, г.

Приготовление реактивов см. с. 278.

Аппаратура и материалы (перечислены на с. 278).

Определение содержания никеля в растениях атомно-абсорбционным методом

Метод основан на измерении поглощения электромагнитного резонансного излучения свободными атомами никеля.

Содержание никеля в разложенных и переведенных в раствор пробах растений можно определять атомно-абсорбционным методом напрямую в пламени ацетилен – воздух. Техника проведения измерений и подготовки стандартных растворов сравнения приведена в разделе I на с. 14 – 22.

Определение содержания никеля в растениях фотометрическим методом с использованием диметилглиоксима

Метод основан на получении окрашенного комплекса никеля с диметилглиоксимом (красно-коричневого цвета) и измерении оптической плотности раствора. Никель, связанный в комплекс с диметилглиоксимом, предварительно отделяют экстракцией хлороформом, устраняя тем самым мешающее влияние ряда элементов. Получение окрашенного комплекса проводят после реэкстракции никеля в водную фазу.

Ход анализа

Аликвоту анализируемого раствора 20 $см^3$ помещают в делительную воронку объемом 100 $см^3$, приливают 30 $см^3$ бидистиллированной воды, доводят 10%-м раствором аммиака до pH 5,5 – 6,0; добавляют 2 $см^3$ 1%-го спиртового раствора диметилглиоксима и перемешивают. Через 5 мин к полученному раствору добавляют 5 $см^3$ хлороформа и энергично встряхивают. После разделения фаз органический слой переносят в смесительный цилиндр объемом 100 $см^3$. К оставшемуся водному раствору вновь приливают 5 $см^3$ хлороформа и экстракцию повторяют. К объединенному органическому экстракту добавляют 5 $см^3$ 0,5 М раствора соляной кислоты и энергично встряхивают. Водную фазу переносят в мерную колбу объемом 25 $см^3$. Повторно проводят в смесительном цилиндре реэкстракцию никеля в 5 $см^3$ 0,5 М раствор соляной кислоты. Органический слой отбрасывают, а водный раствор объединяют с предыдущим. В полученный реэкстракт добавляют 2 $см^3$ бромной воды, 2 $см^3$ 4%-го раствора персульфата аммония и 2 $см^3$ 1%-го раствора диметилглиоксима в 5%-м растворе едкого кали. Содержимое колбы перемешивают и через 10 мин доводят объём до 25 $см^3$ бидистиллированной водой. Измерение оптической плотности проводят при длине волны 450 нм или синем светофильтре относительно нулевого раствора сравнения.

Приготовление калибровочной шкалы и построение *градуировочного графика* описано на с. 279–280.

Рассчитывают содержание никеля в растениях в мг/кг по формуле

$$Ni,\ мг/кг = \frac{C \cdot V_0}{V_1 \cdot m},$$

где C – концентрация никеля, найденная по графику, мкг/25 $см^3$; V_0 – объем исходного анализируемого раствора, $см^3$; V_1 – аликвота анализируемого раствора, $см^3$; m – навеска, г.

Приготовление реактивов см. на с. 280.

Аппаратура и материалы (см. на с. 280).

Определение содержания хрома в растениях атомно-абсорбционным методом

Метод основан на измерении поглощения электромагнитного резонансного излучения свободными атомами хрома.

Содержание хрома в разложенных и переведенных в раствор пробах растений можно определять атомно-абсорбционным методом напрямую в пламени ацетилен – воздух. Техника проведения измерений и подготовки стандартных растворов сравнения приведена в разделе I на с. 14 – 22.

Определение содержания хрома в растениях фотометрическим методом с использованием дифенилкарбазида

Метод основан на получении в кислой среде окрашенного комплекса хрома (VI) с дифенилкарбазидом (красно-фиолетового цвета) и измерении оптической плотности раствора. Обязательной операцией является предварительное окисление хрома (III) до хрома (VI). Мешающее влияние молибдена и ванадия устраняют в процессе осаждения хрома и других гидролизующихся металлов в виде гидроксидов. Мешающее определению железо удаляют из раствора экстракцией с 8-оксихинолином в хлороформе.

Ход анализа

Аликвоту анализируемого раствора 20 см^3 (V_1) помещают в стакан объемом 250 см, приливают 30 см бидистиллированной воды, и проводят анализ по описанию на с. 281 – 282 (нагревают до 80°С и т. д. ...).

Приготовление калибровочной шкалы и построение градуировочного графика описано на с. 282.

Рассчитывают содержание хрома в растениях в мг/кг по формуле

$$Cr,\ мг/кг = \frac{C \cdot V_0 \cdot V_{01} \cdot V_{02}}{m \cdot V_1 \cdot V_2 \cdot V_3}$$

где C – концентрация хрома, найденная по графику, мкг/25 см^3; V_0 – объем исходного анализируемого раствора, см^3; V_1 – аликвота анализируемого раствора, см^3; V_2, V_3 – аликвоты, взятые в процессе анализа, см^3; V_{01}, V_{02} – объемы 20 см^3 и 50 см^3 (см. «*Ход анализа*»); m – навеска пробы растения, г

Реактивы см. на с. 282 – 283.

Аппаратура и материалы (см. на с. 283).

Определение содержания ртути в растениях беспламенным атомно-абсорбционным методом (методом «холодного пара»)

Метод основан на измерении поглощения электромагнитного резонансного излучения свободными атомами ртути. Для получения атомного пара ртути осуществляют разложение пробы растений и переведение ее в раствор, восстановление в растворе химически связанной ртути до металлической, перевод ее в газовую фазу потоком воздуха и продувку этого воздуха с парами ртути через атомизатор (кварцевую трубку). Приводимая ниже методика является модификацией атомно-абсорбционного метода определения ртути с использованием отечественного ртутного анализатора типа «Юлия».

Подготовка проб растений при определении валового содержания ртути: навеску 5 г измельченного и высушенного растительного материала помещают в коническую колбу объемом 500 см^3. Последовательно приливают 1 см^3 этилового спирта, 5 см^3 бидистиллированной воды и 5 см^3 азотной кислоты. Колбу закрывают маленькой воронкой, содержимое перемешивают и оставляют при комнатной температуре на ночь. Затем осторожно при помешивании пробы по каплям приливают 20 см^{3}серной кислоты, не допуская бурного выделения окислов азота.

Разложение проводят на водяной бане при температуре 60 – 80°С в течение 30 – 40 мин. Горячий деструктат фильтруют в мерную колбу объемом 100 см^3 через увлажненный бидистиллированной водой фильтр «синяя лента». Коническую колбу и фильтр несколько раз промывают бидистиллированной водой и доводят объем до 100 см^3.

Ход анализа, приготовление калибровочной шкалы и построение градуировочного графика описаны на с. 284.

Содержание ртути в растениях рассчитывают по формуле

$$Hg,\ мг/кг = \frac{C \cdot V_0}{V_1 \cdot m},$$

где C – концентрация ртути, найденная по градуировочному графику, мкг/V; V_0 – объем исходного анализируемого раствора (объем раствора разложенной пробы – 100 см^3), V_1 – объем аликвоты, см^3; m – навеска пробы растений, г.

Реактивы см. на с. 284.

Аппаратура и материалы (в дополнение к перечисленным на с. 284)

1. Цилиндры мерные объемом 20 см^3 (ГОСТ 25336).

Определение содержания селена в растениях флуориметрическим методом с использованием 2,3-диаминонафталина

Метод основан на получении в кислой среде комплекса селена с 2,3-диаминонафталином-4,5-бензопиазоселенола (флуоресцирует желто-красным цветом при ультрафиолетовом облучении), экстракции комплекса и измерении интенсивности флуоресценции экстракта под действием ультрафиолетового облучения. Азотная кислота мешает определению селена, поэтому после разложения проб растений азотную кислоту удаляют добавлением мочевины или нагреванием растворов до паров хлорной кислоты. Мешающие влияния железа, кальция, магния, меди, никеля, молибдена и кобальта устраняют связыванием их в комплекс с трилоном Б.

Подготовка растений (разложение)

Навеску 0,5 г тонко измельченной растительной пробы помещают в коническую колбу объемом 50 $см^3$, приливают 5 $см^3$ концентрированной азотной кислоты и через 12 ч добавляют 4 $см^3$ концентрированной хлорной кислоты. Колбу накрывают маленькой воронкой в качестве обратного холодильника и нагревают на водяной бане в течение 30 мин. После этого воронки снимают и колбы нагревают на плитке до появления паров хлорной кислоты. Затем содержимое охлаждают, добавляют 1 $см^3$ 30%-й перекиси водорода и вновь нагревают до появления паров хлорной кислоты. После охлаждения в колбу приливают бидистиллиро-ванной воды до объема разложенной пробы 20 $см^3$.

Ход анализа см. на с. 287.

Приготовление калибровочной шкалы и построение градуировочного графика описаны на с. 287.

Содержание селена в растениях в мкг/кг определяют по формуле

$$Se = C / m$$

где C – количество селена, найденное по градуировочному графику в мкг/5 $см^3$; m – навеска растительной пробы.

Реактивы (в дополнение к перечисленным на с. 287):

1. Кислота азотная по ГОСТу 11125 «ос.ч.».
2. Кислота соляная по ГОСТу 14261 «ос.ч.».
3. Кислота хлорная по ТУ 6-09-2878-73 «х.ч.».
4. Вода бидистиллированная.

Аппаратура и материалы (в дополнение к перечисленным на с. 287).

1. Электроплитка бытовая по ГОСТу 1419.
2. Пробирки с притертыми пробками объемом 10 и 20 $см^3$ по ГОСТу 1770.
3. Колбы конические объемом 50 $см^3$ по ГОСТу 25336.
4. Цилиндры мерные объемом 5, 10 $см^3$ по ГОСТу 1770.
5. Воронки лабораторные по ГОСТу 25336.
6. Бумага индикаторная универсальная ТУ 6-09-1181.

7. Фильтры беззольные «белая лента»ТУ 6-09-1678.
8. Кислота азотная по ГОСТу 11125 «ос.ч.».
9. Кислота соляная по ГОСТу 14261 «ос.ч.».
10. Кислота хлорная по ТУ 6-09-2878 «х.ч.».
11. Вода бидистиллированная.

Определение содержания мышьяка в растениях фотометрическим методом с использованием молибдата аммония

Метод основан на разложении растительной пробы, переведении ее в раствор, отделении мышьяка от основной массы пробы дистилляцией арсина, образовании окрашенного в синий цвет («молибденовая синь») мышьяково-молибденового комплекса и измерении оптической плотности раствора. Установка для дистилляции арсина показана на рис. 19, с. 289.

Подготовка растительной пробы. Навеску 1–2 г пробы помещают в стакан объемом 100 см^3, приливают 10 см^3 концентрированной азотной кислоты и 3 см^3 концентрированной серной кислоты, накрывают часовыми стеклами. Стакан помещают на песчаную баню или электроплитку и нагревают до кипения, периодически помешивая содержимое для предупреждения выброса суспензии. Разложение пробы продолжают до обесцвечивания раствора и появления белых паров SO_3. Если при появлении паров SO_3 содержимое стакана сохраняет желтую или буровато-желтую окраску, то необходимо добавить 2 – 3 см^3 концентрированной азотной кислоты и продолжить нагревание до просветления пробы и появления белых паров SO_3. После этого в стакан добавляют 2 – 3 см^3 бидистиллированной воды и продолжают нагревание с целью удаления остатков азотной кислоты до появления паров SO_3. Обрабатывают содержимое стакана бидистиллированой водой еще 2 – 3 раза.

Ход анализа см. на с. 289 и рис. 19.
Приготовление калибровочной шкалы и построение *градуировочного графика* описаны на с. 289 – 290.

Рассчитывают содержание мышьяка в растениях в мг/кг по формуле

$$As = C/m,$$

где C – концентрация мышьяка, найденная по градуировочному графику в мкг/6,2 см^3; m – навеска растительной пробы, г.

Реактивы см. на с. 291.

Аппаратура и материалы (с. 291):

Определение содержания фторидов в растениях ионометрическим методом

Определение содержания фторидов в растениях основано на разложении растительного материала, переведении фторидов в раствор и измерении активности ионов фтора на фоне буферного раствора (хлорида натрия и нитрата лантана с pH 5,8) с использованием фторидного электрода. Мешающее влияние железа (III) и алюминия устраняют путем маскирования ЭДТА и ацетат-ионами. Определению фторидов мешают катионы, образующие прочные фторидные комплексы (торий, цирконий).

Ход анализа

Навеску высушенной и тонко измельченной пробы растений 2–3 г помещают в никелевый или платиновый тигель, смачивают 1%-м раствором едкого натра и озоляют в муфельной печи при температуре 550–600°С. Золу растворяют в горячей дистиллированной воде и фильтруют через фильтр «синяя лента» в фарфоровую чашку объемом 100 см^3. Тигель ополаскивают горячей дистиллированной водой 2 раза по 10 см^3. Фильтрат нейтрализуют 5 М раствором соляной кислоты до pH 5,5 – 6,0; добавляют 10 г карбоната аммония для осаждения карбоната железа и других металлов и выпаривают на водяной бане до удаления запаха аммиака. По окончании выпаривания раствор фильтруют в полиэтиленовый цилиндр объемом 50 см^3, дважды обмывают чашку горячей дистиллированной водой и доводят объем до метки.

Аликвоту 10 см^3 подготовленного раствора помещают в полиэтиленовый стакан объемом 50 см^3, нейтрализуют до pH 5,8 5 М раствором соляной кислоты, добавляют 10 см^3 буферного раствора, погружают электроды, перемешивают раствор с использованием магнитной мешалки в течение 1 мин (по секундомеру) и измеряют показания разности электродных потенциалов.

Приготовление калибровочной шкалы и измерение разности электродных потенциалов и построение графика зависимости разности потенциалов от содержания фторидов описано на с. 293.

Содержание фторидов в растениях вычисляют по формуле

$$F = C \cdot V / (V_1 \cdot m),$$

где C – концентрация фторидов, найденная по градуировочному графику в мкг/10 см^3; V_1 – аликвота анализируемого раствора (10 см^3); V – объем разложенной и подготовленной к определению пробы растения (50 см^3); m – навеска растительной пробы.

Реактивы см. на с. 294.

Аппаратура и материалы (с. 294–295).

Определение фтора в растениях фотометрическим методом с использованием ализаринкомплексона и нитрата церия

Метод основан на получении окрашенного в синий цвет тройного комплексного соединения фтора с ализаринкомплексоном и нитратом церия и измерении оптической плотности раствора.

Ход анализа

Озоление пробы растений, растворение золы и выпаривание с углекислым аммонием проводят так же, как описано на с. 450 – 452.

В мерную колбу объемом 50 см^3 помещают 20 – 30 см^3 подготовленного анализируемого раствора, приливают 5 см^3 0,0005 М раствора ализаринкомплексона, 1 см^3 ацетатного буферного раствора, 5 см^3 0,0005 М раствора нитрата церия, доводят до метки дистиллированной водой, перемешивают и оставляют в темноте на 1 ч. Оптическую плотность растворов измеряют в кювете с толщиной просвечивающего слоя 5 см при длине волны 615 нм или оранжевом светофильтре по отношению к холостой пробе.

Приготовление калибровочной шкалы описано на с. 295 – 296.

Содержание фтора в почве вычисляют по формуле

$$F = \frac{C \cdot V_0 \cdot V_2}{m \cdot V_1 \cdot V_3},$$

где C – концентрация фтора, найденная по графику, в мкг/50 см^3; V_0 – объем разложенной пробы (50 см^3); V_1 – объем аликвоты анализируемого раствора; m – навеска растительной пробы.

Реактивы см. на с. 296 – 297.

Аппаратура и материалы (с. 297).

Определение содержания хлоридов в растениях методом ионометрического титрования

Метод основан на разложении пробы растений, переведении ее в раствор и ионометрическом титровании хлоридов раствором азотнокислого серебра, в процессе которого ионы серебра связываются хлорид-ионами в труднорастворимое соединение. Для установления конечной точки титрования используют электродную пару, состоящую из индикаторного хлорид-селективного электрода и вспомогательного насыщенного хлорсеребряного электрода с электролитическим ключом, заполненным раствором азотнокислого калия.

Ход анализа

Озоление пробы растений, растворение золы и выпаривание с углекислым аммонием проводят так же, как описано на с. 450 – 451.

Только озоление проводят при температуре 450 – 500°С, а раствор перед выпариванием с уксуснокислым аммонием нейтрализуют 1М раствором азотной кислоты.

Аликвоту подготовленной анализируемой пробы 5–20 $см^3$ помещают в стакан объемом 50 $см^3$ и добавляют 1 $см^3$ 0,1 М раствора азотной кислоты. Бюретку заполняют 0,02 М раствором азотнокислого серебра. На блоке автоматического титрования (БАТ) устанавливают значение ЭДС конечной точки титрования, которую определяют предварительно.

Стакан с вытяжкой ставят на магнитную мешалку, погружают в раствор электродную пару и кончик дозирующей трубки, включают магнитную мешалку, затем блок автоматического титрования нажатием кнопок «Вкл.» и затем «Пуск» и титруют до заданного значения ЭДС. После того, как загорится сигнальная лампа «Конец», определяют расход раствора азотнокислого серебра. По окончании титрования БАТ выключают в обратном порядке – сначала кнопку «Пуск», затем – «Вкл.».

Содержание хлоридов в мэкв/100 г пробы вычисляют по формуле

$$Cl = \frac{(V - V_0) \cdot C \cdot 100 \cdot V_2}{m \cdot V_1},$$

где V – объем 0,02 М раствора азотнокислого серебра, пошедший на титрование анализируемого раствора, $см^3$; Vo – объем 0,02 М раствора азотнокислого серебра, пошедший на титрование холостой пробы, $см^3$; C – концентрация раствора азотнокислого серебра в ммоль/$см^3$ (0,02 ммоль/$см^3$); 100 – коэффициент пересчета на 100 г пробы; V_1 – аликвота анализируемого раствора, $см^3$; V_2 – объем исходного раствора (разложенной и подготовленной пробы 50 $см^3$); m – навеска растительной пробы, г.

Массовую долю хлоридов в растениях (в %) вычисляют по формуле

$$Cl = A \cdot Э / 1000,$$

где A – содержание хлоридов в анализируемой пробе, мэкв/100 г; $Э$ – эквивалентная масса хлорид-иона (35,5); *1000* – коэффициент пересчета в граммы.

Реактивы см. на с. 298–299.

Аппаратура и материалы (в дополнение к перечисленным на с. 299).

1. Электрическая муфельная печь.
2. Тигли никелевые по ГОСТу 492 или платиновые.
3. Чашки фарфоровые объемом 100 см по ГОСТу 9147.

Раздел VI

АНАЛИЗ УДОБРЕНИЙ

МИНЕРАЛЬНЫЕ УДОБРЕНИЯ

Определение видов и форм минеральных удобрений по качественным реакциям *(см. схему в ПРИЛОЖЕНИИ на с.652 – 653)*

1. Простые минеральные удобрения могут быть кристаллическими (к ним относятся все азотные, кроме цианамида кальция, и все калийные) и аморфными (к ним относятся все фосфорные и известковые удобрения).

2. Кристаллические удобрения заметно растворимы либо полностью растворимы. Аморфные удобрения, как правило, слабо растворимы или нерастворимы.

3. Гранулометрический состав: азотные удобрения выпускаются в блестящих гранулах и покрыты слабой легкорастворимой гидрофобной плёнкой, за исключением цианамида кальция, сульфата и хлорида аммония; калийные – в виде крупных кристаллов белого или розового цвета (хлорид калия) или мелкокристаллических порошков с серым оттенком – все остальные. Простые фосфорные удобрения представлены матовыми гранулами серо-белого цвета различных оттенков и аморфными порошками, известковые материалы – аморфными порошками различной тонины помола, сложные и комплексные удобрения – матовыми гранулами беловато-серовато-розового оттенка.

4. В состав кристаллических удобрений входят следующие ионы, которые достаточно легко определяются качественными реакциями: NH_4^+, K^+, Ca^{2+}, Na^+, SO_4^{2-}, NO_3^-, Cl^-.

Для определения ***иона*** NH_4^+ используют реакцию удобрения со щёлочью, выделение в этой реакции аммиака при нагревании устанавливается по запаху

$$NH_4NO_3 + NaOH \rightarrow NaOH + NH_3\uparrow + H_2O.$$

Присутствие ***иона*** NO_3^- устанавливается с помощью дифениламина, который при взаимодействии с нитрат-ионом образует в растворе соединения синего цвета.

Для открытия ***сульфат-иона*** используют реакцию с хлоридом бария:

$$(NH_4)_2SO_4 + BaCl_2 \rightarrow BaSO_4\downarrow + 2\,NH_4Cl.$$

Выпадает белый кристаллический осадок. Образовавшийся осадок растворяется под действием соляной и уксусной кислоты.

5. Присутствие Ca^{2+}, Na^+, K^+ обнаруживают по окраске пламени: кусочек удобрения помещают на сильно нагретую деревянную пластинку и вносят в пламя горелки: калийные соли, особенно селитра, вспыхивают

и окрашивают пламя в фиолетовый цвет, натриевые соли – в жёлто-оранжевый, кальциевые вспыхивают и сгорают, не окрашивая пламени.

Ход анализа

1. Работу начинают с визуальной оценки удобрения: определяют цвет, запах, характер гранул или кристаллов. Затем 2 г удобрения помещают в сухую чистую пробирку, добавляют 40 $см^3$ дистиллированной воды, хорошо перемешивают, наблюдают за растворимостью, возможно слабое нагревание.
2. Если удобрение растворилось полностью или больше половины, раствор поровну разливают в четыре сухие пробирки для проведения качественных реакций на содержание ионов.
3. В первую пробирку добавляют щёлочь, во вторую – хлорид бария, в третью – азотнокислое серебро, в четвёртую – дифениламин. Реакция со щелочью даёт возможность установить присутствие в удобрении иона NH_4^+ по запаху. Добавление хлорида бария – присутствие сульфат-иона SO_4^{2-}, образуется кристаллический осадок сульфата бария. Реакция с азотнокислым серебром в третьей пробирке позволяет определить присутствие ионов Cl^- и $H_2PO_4^-$, хлорид серебра выпадает в виде белого творожистого осадка, а фосфат-ион окрашивает раствор в жёлтый цвет. Реакцию в четвёртой пробирке проводят следующим образом: смачивают этим раствором поверхность белой фарфоровой чашечки и добавляют 10 – 12 капель дифениламина. Синее окрашивание указывает на присутствие нитрат-иона в пробирке, такие удобрения относят к селитрам.
4. Реакция удобрений на раскалённом угле позволяет разделить такие удобрения, как NH_4NO_3, $CO(NH_2)_2$, $NaNO_3$, KNO_3 т.е. селитры и мочевину. Удобрения, которые дают окрашивание с дифениламином, в сухом виде помещают на кусочек раскалённого угля, при этом селитры вспыхивают и окрашивают пламя: калийная в фиолетовый цвет, а натриевая в жёлто-оранжевый, кальциевая – пламя не окрашивает, поэтому для идентификации, к водному раствору этого удобрения добавляют раствор щёлочи, выпадает аморфный осадок $Ca(OH)_2$. Аммиачная селитра на раскалённом угле плавится с выделением белого дыма и запаха аммиака.
5. Мочевина $CO(NH_2)_2$ хорошо растворяется в воде, однако с перечисленными реактивами никаких характерных реакций не даёт. Порошок удобрения на раскалённом угле дымит и выделяет аммиак.
6. Цианамид кальция $CaCN_2$ определяют по цвету, запаху и реакции с кислотой. Это тонко размолотый тёмно-серый порошок, имеет слабый запах нефтепродуктов, практически нерастворим в воде. В пробирку насыпают сухой порошок ≈ 1 г, добавляют соляной кислоты, наблюдают вскипание с образованием чёрной копотеобразной пены. В другую пробирку насыпают примерно столько же удобрения, добавляют 20 $см^3$ дистиллированной воды, тщательно взбалтывают, после отстоя

определяют реакцию надосадочной жидкости по лакмусу, цианамид кальция имеет щелочную реакцию, наблюдаем синее окрашивание.

7. Калийные удобрения, исключая калийную селитру, не сгорают и не плавятся на раскалённом угле, а также не дают запаха аммиака. Для них характерно наличие крупных кристаллов или мелкокристаллической смеси. В настоящее время выпускают и применяют следующие виды: хлорид калия *KCl*, сернокислый калий K_2SO_4, калийную соль-смесь [$(m \cdot KCl\ n \cdot NaCl) + KCl$], калимагнезию ($K_2SO_4 \cdot MgSO_4$), каинит смесь ($KCl \cdot MgSO_4\ 3H_2O$) и хлоркалий – электролит. Эти удобрения различаются по внешнему виду и реакциям на сопутствующий анион.

8. Калийные удобрения растворяются в воде, как описано в п. 1. Калийная соль и каинит дают мутные непрозрачные растворы из-за присутствия промышленных примесей, остальные удобрения дают прозрачные растворы.

9. Калийную соль и каинит различают по ряду химических реакций: каинит даёт в растворе три реакции с образованием осадков – это реакции с азотнокислым серебром, с хлоридом бария и щёлочью (*NaOH*), где выпадает осадок гидроокиси магния; калийная соль даёт реакцию только с азотнокислым серебром, кроме того, натрий, который входит в состав удобрения, окрашивает пламя горелки в жёлто-оранжевый цвет.

10. Прозрачные растворы дают хлористый калий, сульфат калия, калимагнезия. Реакция с хлоридом бария позволяет выявить и распознать два последних удобрения по наличию мелкого кристаллического осадка сульфата бария. Калимагнезию легко отличить от сульфата калия, прибавив в пробирку с раствором удобрения щёлочь, при наличии магния в растворе образуется осадок – гидроокись магния.

Определение аморфных простых удобрений. Фосфорные удобрения и известковые материалы представляют матовые гранулы или смеси неупорядоченного гранулометрического состава, цвет – от тёмно-серого до белого, все суперфосфаты, одинарный, двойной и тройной – удобрения гранулированные.

11. 1 г удобрений помещают на часовое стекло или в пробирку, приливают 2–3 капли 10%-й соляной кислоты, наблюдается вскипание всех известковых материалов, томасшлака и фосфатшлака. Суперфосфат, преципитат, фосфоритная мука не вскипают. Томасшлак и фосфатшлак отличаются от всех известковых материалов по цвету, они имеют тёмно-серый цвет и больший удельный вес. В отличие от других фосфорных удобрений, они имеют щелочную реакцию, поэтому при взаимодействии с водой надосадочная жидкость окрашивается соответствующими индикаторами.

12. Определение фосфат-иона проводят так: 1 г удобрения (если они гранулированные, предварительно растирают в ступке) помещают в пробирку, приливают 30 $см^3$ воды, встряхивают, отстаивают, сливают

надосадочную жидкость в другую пробирку и добавляют 2 – 3 капли азотнокислого серебра. В присутствии фосфат-иона появляется жёлтая окраска. В другой порции фильтрата проводят реакцию с хлоридом бария, появление белого осадка свидетельствует о присутствии сульфат-иона, который находится в виде гипса в простом суперфосфате.

13. Фосфоритная мука – тонкий землисто-коричневый порошок, водная вытяжка не даёт характерных реакций, удобрение растворимо только в смеси концентрированных кислот: серной и азотной.

Определение сложных и комплексных удобрений. Отечественная промышленность выпускает эти удобрения в виде матовых, серовато-белых или розовато-серых гранул. Их получают при разложении фосфоритного сырья азотной кислотой или при нейтрализации фосфорной и азотной кислот аммиаком. Получают нитрофоску, нитроаммофоску, нитрофос, нитроаммофос, аммофос и полное минеральное удобрение (NPK-удобрение) для защищённого грунта.

Вид удобрения	Катионы и анионы в составе удобрений						
	K^+	Ca^{2+}	NH_4^+	NO_3^-	SO_4^{2-}	Cl^-	$H_2PO_4^-$
нитрофоска	+	+	+	+	+	+	+
нитрофос	-	+	+	+	+	-	+
аммофос	-	-	+	-	-	-	+
нитроаммофоска	+	-	+	+	-	+	+

Гранулированные удобрения растирают в фарфоровой ступке, 1 г удобрения помещают в пробирку, приливают 60 $см^3$ воды, осторожно нагревают и перемешивают, достигая возможно полного растворения осадка, отстаивают, надосадочную жидкость разливают примерно поровну в шесть пробирок, проводят качественные реакции на соответствующие ионы, так же как при анализе простых удобрений.

Методы определения гигроскопической и общей воды в удобрениях

Метод определения гигроскопической и общей воды высушиванием в сушильном шкафу

Ход анализа

2 – 3 г удобрения помещают в бюкс, предварительно высушенный до постоянной массы, и взвешивают с погрешностью не более 0,0002 г.

При определении воды в калимагнезии и калийно-магниевом концентрате навеску взвешивают с удвоенным количеством углекислого натрия, сверху покрывают тонким слоем углекислого натрия и снова взвешивают.

Бюкс с удобрением помещают в термостат и сушат с открытой крышкой в течение 3 ч, аммиачную селитру сушат 2 ч. Затем бюкс закрывают и охлаждают в эксикаторе, выдерживая перед взвешиванием не менее 30 мин.

Обработка результатов

Массовую долю воды (X) в процентах вычисляют по формуле

$$X = \frac{(m - m_1) \cdot 100}{m_2},$$

где m – масса пробы и бюкса до высушивания, г; m_1 – масса бюкса с пробой после высушивания, г; m_2 – масса навески, г.

Условия определения воды уточняются в стандартах на конкретные продукты, не включенные в табл. 32.

32. Температура, поддерживаемая в термостате при сушке различных удобрений

Наименование удобрения	Температура сушки, °С
Карбамид (мочевина), аммофос, нитрофоска, нитроаммофоска, нитроаммофос	65 – 70
Сложно-смешанные удобрения, суперфосфат, простой аммонизированный и двойной суперфосфат	75 – 80
Аммиачная селитра, хлористый калий, сернокислый калий, простой суперфосфат, 40%-я калийная смешанная соль, преципитат удобрительный, фосфоритная мука	100
Калимагнезия, калийно-магниевый концентрат, калий сернокислый	200 – 250*

Примечание. * Определяется общая вода

За результат анализа принимают среднее арифметическое двух (для карбамида – трех) параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми при доверительной вероятности $P = 0,95$ не должны превышать:
при массовой доле воды до 0,5% – 0,05%;
при массовой доле воды свыше 0,5 до 2% – 0,2%;
при массовой доле воды свыше 2 до 6% – 0,4%;
при массовой доле воды свыше 6 до 12% – 0,8%.

Приборы, посуда и реактивы

1. Шкаф сушильный с погрешностью регулирования температуры до ± 2,5°С.
2. Эксикатор (ГОСТ Г 6371), заполненный осушителем.
3. Бюксы (ГОСТ 7148), диаметром от 32 до 60 мм и высотой 30 ± 2 мм или кювета алюминиевая диаметром 32 – 60 мм, высотой 5 – 7 мм.
4. Весы аналитические.
5. Натрий углекислый безводный (ГОСТ 83), высушенный в течение 2 ч в сушильном шкафу при 200 – 250°С (хранить в посуде с притертой пробкой).

Метод определения гигроскопической воды высушиванием при помощи прибора с зеркальной инфракрасной лампой

Ход анализа

2 – 5 г удобрения помещают в бюкс или кювету, предварительно высушенную до постоянной массы, закрывают крышкой или стеклом и взвешивают с погрешностью, указанной в табл. 33. Открытую бюкс или кювету с навеской удобрения ставят под лампу, на стол, покрытый асбестом, и высушивают при условиях, указанных в табл. 33. Температуру сушки определяют ртутным термометром, который помещают на стол под центр лампы.

Бюкс (кювету) покрывают крышкой (стеклом), выдерживают в эксикаторе не менее 30 мин и взвешивают.

Массовую долю воды (*X*) в процентах вычисляют по формуле:

$$X = \frac{(m - m_1) \cdot 100}{m_2},$$

где m – масса бюкса с навеской до высушивания, г; m_1 – масса бюкса с навеской после высушивания, г; m_2 – масса навески, г.

За результат анализа принимают среднее арифметическое двух (для карбамида – трех) параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми при доверительной вероятности P=0,95 не должны превышать:
при массовой доле воды до 1% – 0,1%;
при массовой доле воды свыше 1 до 4% – 0,3%;
при массовой доле воды свыше 4 до 12% – 0,5%.

33. Температура, поддерживаемая при сушке различных удобрений под лампой

Наименование удобрения	Масса навески, г	Погрешность взвешивания, г	Условия сушки	
			Температура сушки, °С	Время сушки, мин
Суперфосфаты	2–5	0,001	75–80	30
Аммонизированный суперфосфат и сложные удобрения	2–5	0,0002	75–80	20
Карбамид	2–5	0,0002	65–70	30
Карбоаммофоска	2–5	0,0002	75–80	10

Приборы и посуда

1. Прибор ИЛ–3М или лампа.
2. Термоизлучительная инфракрасная зеркальная типа ЗС-3, на 500 Вт (ГОСТ 13874), закрепленная на штативе и вмонтированная в кожух из жести или другие приборы с использованием инфракрасной лампы.
3. Бюксы диаметром 32 – 60 мм (ГОСТ 7148) или кювета алюминиевая размером 60 × 60 мм и высотой 5 – 10 мм.
4. Мешалка магнитная типа ММ-2.
5. Весы аналитические.
6. Термометр.

Метод определения общей воды в однокомпонентных калийных удобрениях высушиванием при помощи прибора с зеркальной инфракрасной лампой

Ход анализа

2 – 5 г удобрения взвешивают с погрешностью не более 0,0002 г, помещают в кювету, предварительно высушенную до постоянной массы. При анализе калимагнезии и калийно-магниевого концентрата навеску смешивают с двойным количеством углекислого натрия, сверху покрывают тонким слоем этой же соли.

Содержимое кюветы смачивают этиловым спиртом и ставят сушить под включенную лампу. Стол должен быть покрыт плиткой из термостойкого материала и сверху асбестом. Расстояние от лампы до кюветы устанавливают 100 – 150 мм, соответствующее температуре приблизительно 250 – 200°С. Температуру сушки контролируют периодически перед каждой серией определений с помощью термопары хромель-копель, конец которой помещают, на стол под центр лампы. Через 5 мин расстояние от лампы до кюветы уменьшают до 50 мм (температура около 350°С) и сушат пробу еще 10 мин.

По окончании сушки кюветы выдвигают, покрывают стеклом и ставят на 5 мин для охлаждения на магнитную мешалку, подключая только кольцеобразный канал для охлаждения проточной водопроводной водой или на любую другую охлаждающую поверхность. Охлажденную кювету с навеской взвешивают.

Массовую долю воды (X) в процентах вычисляют по формуле

$$X = \frac{(m - m_1) \cdot 100}{m_2},$$

где m – масса кюветы с навеской (а при анализе калимагнезии и калийно-магниевого концентрата – с навеской и углекислым натрием) до сушки, г; m_1 – масса кюветы с навеской (при анализе калимагнезии и калийно-магниевого концентрата – с навеской и углекислым натрием) после сушки, г; m_2 – масса навески удобрения, г.

За результат анализа принимают среднее арифметическое двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 0,5%. при доверительной вероятности Р = 0,95.

Приборы, посуда и реактивы (в дополнение к приведенным на с. 479).

1. Натрий углекислый безводный по ГОСТу 83, высушенный в течение 2 ч в сушильном шкафу при 200–250°С (хранить в посуде с притертой пробкой).
2. Спирт этиловый синтетический по ГОСТу 11547.
3. Термопара хромель-копелевая.

Объемный метод определения общей и гигроскопической воды реактивом Фишера или йод-ацетатным раствором

Сущность метода заключается во взаимодействии воды, находящейся в среде метанола в присутствии оснований (пиридина пли уксуснокислого натрия) с сернистым ангидридом и металлическим йодом с образованием солей йодистоводородной и серной кислоты. Эквивалентную точку определяют визуально или электрометрически.

Визуальное определение свободной воды с реактивом Фишера или с йод-ацетатным раствором

Ход анализа

Определение проводят на приборе (рис. 28). Для заполнения бюретки открывают кран, и реактив из сосуда поступает в бюретку. После ее заполнения следует убедиться в полноте стекания реактива. 0,5 г удобрения, взятого с погрешностью не более 0,0002 г, переносят в сухую, предварительно взвешенную колбу с притертой пробкой вместимостью 25 – 30 см^3. Колбу быстро соединяют с наконечником бюретки и пробу титруют реактивом Фишера или йод-ацетатным раствором до появления красно-коричневой окраски над осадком.

1 – магнитная мешалка; 2 – колба Фишера для титрования; 3, 4 – хлоркальциевые трубки; 5 – бюретка с автоматической установкой нуля; 6 – склянка из темного стекла; 7 – склянка Тищенко, заполненная силикагелем; 8 – нагнетательная груша; 9 – пробирка для взятия навески

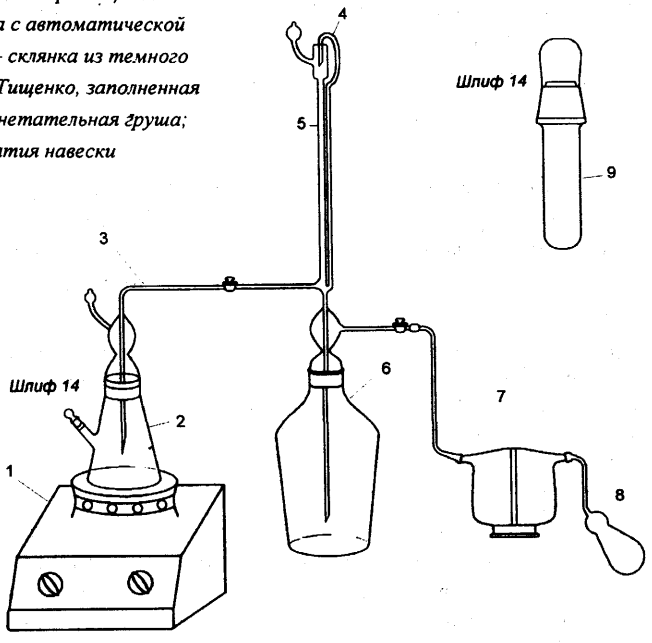


Рис. 28. Прибор для титрования реактивом Фишера

При малом содержании влаги в удобрении навеску вносят в 2 – 15 $см^3$ предварительно оттитрованного метанола и затем проводят титрование.

Массовую долю воды (X) в процентах вычисляют по формуле

$$X = \frac{T \cdot 100 \cdot V}{m},$$

где m – масса навески, г; V – объем реактива Фишера или йод-ацетатного раствора, израсходованный на титрование анализируемой пробы, $см^3$; T – титр реактива Фишера или йод-ацетатного раствора, $г/см^3$;

Электрометрическое определение общей воды с реактивом Фишера или йод-ацетатным раствором

Ход анализа

1 г удобрения, взвешенного с погрешностью не более 0,0002 г, переносят в сухую и взвешенную с той же погрешностью мерную колбу вместимостью 50 $см^3$, добавляют 30 $см^3$ метанола, встряхивают в течение 5 – 10 мин, затем доливают метанолом до метки, закрывают пробкой и перемешивают. Сухой пипеткой при помощи груши отбирают 10 $см^3$ анализируемого раствора, переносят его сначала в шприц, а затем из шприца в ячейку для титрования. Раствор может вводиться пипеткой через отверстие, в котором прокладка для шприца заменена пробкой с хлоркальциевой трубкой. Затем титруют реактивом Фишера или йод-ацетатным раствором. В тех же условиях титруют 10 $см^3$ метанола, взятого для экстрагирования воды.

Массовую долю воды (X_1) в процентах вычисляют по формуле

$$X_1 = \frac{(V - V_1) \cdot T \cdot 50 \cdot 100}{m \cdot 10},$$

где V – объем реактива Фишера или йод-ацетатного раствора, израсходованный на титрование анализируемой пробы, $см^3$; V_1 – объем реактива Фишера или йюд-ацетатного раствора, израсходованный на титрование 10 $см^3$ метанола, $см^3$; T – титр реактива Фишера или йод-ацетатного раствора, $г/см^3$; m – масса навески, г.

За результат анализа принимают среднее арифметическое двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми при доверительной вероятности P = 0,95 не должны превышать:
при массовой доле воды до 1% – 0,1%;
при массовой доле воды свыше 1 до 4% – 0,3%;
при массовой доле воды свыше 4 до 12% – 0,5%.

Установка титров реактива Фишера и йод-ацетатного раствора по образцовому раствору воды в метаноле

В сухую колбу вместимостью 50 – 100 $см^3$ помещают 10 $см^3$ образцового раствора воды в метаноле, предварительно выдержанного в термостате при 20°С в течение 20 мин, и титруют реактивом Фишера или йод-ацетатным раствором до

появления красновато-коричневой окраски. Одновременно титруют 10 см^3 метанола, применяемого для приготовления образцового раствора воды, также выдержанного в термостате при 20°С.

Титр реактива Фишера или йод-ацетатного раствора (I) в г/см^3 вычисляют по формуле

$$T = \frac{m \cdot 10}{(V - V_1) \cdot 50},$$

где m – масса воды, взятая для приготовления образцового раствора воды в метаноле, г; V – объем реактива Фишера или йод-ацетатного раствора, израсходованный на титрование 10 см^3 образцового раствора воды в метаноле, см^3; V_1 – объем реактива Фишера или йод-ацетатного раствора, израсходованный на титрование 10 мл метанола, см^3.

Установка титров реактива Фишера и йод-ацетатного раствора по навеске воды

В сухую колбу вместимостью 50 – 100 см^3 помещают 2 – 5 см^3 метанола при установлении титра визуальным способом или 10 – 15 см^3 при электрометрическом способе определения титра и добавляют реактив Фишера или йод-ацетатный раствор до появления красно-коричневой окраски. Затем из капельницы с водой вместимостью 5 – 10 см^3, предварительно взвешенной с погрешностью не более 0,0002 г, вводят в колбу для титрования одну-две капли воды (0,01 – 0,04). Капельницу снова взвешивают с той же погрешностью и по разности весов устанавливают массу воды.

Раствор в колбе перемешивают, и титруют реактивом Фишера или йод-ацетатным раствором до появления красновато-коричневой окраски.

Титр реактива Фишера или йод-ацетатного раствора – количество воды в граммах, соответствующее 1 см^3 реактива Фишера или йод-ацетатного раствора (T) вычисляют по формуле

$$T = \frac{m}{V},$$

где m – масса волы, г, V – объем реактива Фишера или йод-ацетатного раствора, израсходованный на титрование, см^3.

Реактивы

1. Вода дистиллированная по ГОСТу 6709.
2. Метанол-яд (ГОСТ 6995) или этиленгликоль (ГОСТ 10164).
3. Йод (ГОСТ 4159).
4. Натрий йодистый (ГОСТ 8422).
5. Натрий уксуснокислый (ГОСТ 199).
6. Ангидрид сернистый жидкий технический (ГОСТ 2918).
7. Реактив Фишера.
8. Йод-ацетатный раствор; готовят следующим образом: в склянку из темного стекла с притертой пробкой помещают 700 см^3 метанола, 63 г йода, 25 г йодистого натрия, высушенного до постоянной массы при 120°С, и 85 г уксуснокислого натрия, высушенного в термостате до постоянной массы при 125°С. Склянку закрывают пробкой, перемешивают до полного растворения йода и соли. Полученный раствор насыщают сернистым ангидридом до тех пор, пока привес не составит 23 г. Затем объем раствора доводят метанолом до 1 л, перемешивают и сохраняют в герметически закрытой склянке, защищенной от попадания света.

9. Образцовый раствор воды в метаноле: готовят следующим образом: 0,5 $см^3$ воды взвешивают в сухой мерной колбе вместимостью 50 $см^3$ с погрешностью не более 0,0002 г доводят раствор до метки метанолом, выдержанным в течение 20 мин в термостате при 20°С и перемешивают.

Динамический хроматографический метод определения гигроскопической воды

Сущность метода заключается в выдувании влаги из образца потоком газа-носителя и измерении дифференциальным способом содержания воды в потоке газа с помощью детектора теплопроводности.

Градуировка прибора

Включение хроматографа на схеме установки (рис. 29) осуществляется в соответствии с инструкцией, прилагаемой к прибору (хроматографические колонки из схемы исключаются и заменяются металлическим капилляром из комплекта прибора).

В сухую (U-образную трубку (рис. 29, *а*) помещают 0,001 – 0,01 $см^3$ дистиллированной воды, которую вводят с помощью жидкостного микрошприца, прилагаемого к хроматографу. Трубки подсоединяют резиновым шлангом встык на четырехходовом кране (рис. 29, *б*) в схему хроматографа, между сравнительной и измерительной ячейками детектора. Кран находится в положении I. При повороте крана в положение II подключают поток газа-носителя и выдувают имеющийся в трубке воздух, при этом перо самописца отходит вправо. По возвращении пера влево край переводят в положение I, помещают трубку в стакан с водой, предварительно нагретой до 60–85°С (в зависимости от вида удобрении): опять открывают, кран в положение II. Определение считают законченным по возвращении пера самописца на нулевую линию.

Участок диаграммной ленты, очерченный нулевой линией и кинетической кривой, вырезают и взвешивают с погрешностью не более 0,0002 г или определяют площадь под кривой с помощью интегратора. Градуировку прибора следует проводить не реже одного раза в 5 суток.

Ход анализа

0,3 – 1 г удобрения взвешивают и сухой U-образной трубке с погрешностью не более 0,0002 г. Последующие операции выдувания влаги из образца проводят так же, как при градуировке прибора.

Массовую долю воды в удобрениях (X) в процентах вычисляют по формуле

$$X = \frac{100 \cdot m_1 \cdot m_2}{m_3 \cdot m_4},$$

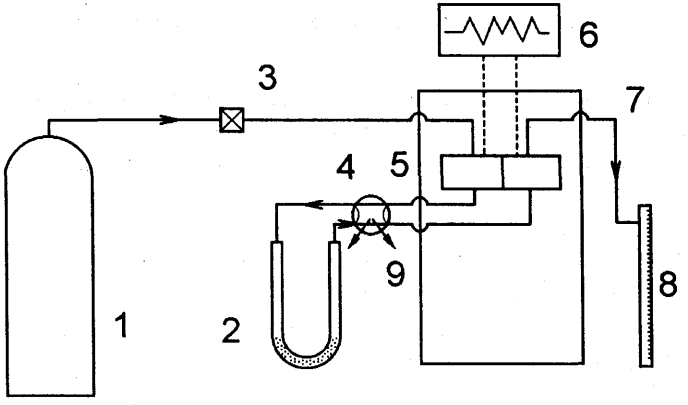
где m_1 – масса вырезанной диаграммной ленты но кривой анализируемого образца, г, (или показания интегратора); m_2 – масса воды, введенная в трубку при калибровке, г, m_3 – масса вырезанной диаграммной ленты но кривой, полученная при калибровке прибора, г, (или показания интегратора при калибровке); m_4 – масса навески удобрения, г.

За результат анализа принимают среднее арифметическое двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 0,06% для удобрений с влажностью до 1% и 0,3% для удобрении с влажностью до 4% при доверительной вероятности $P = 0,95$.

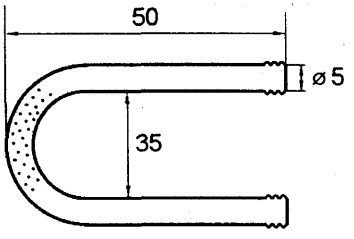
Применяемые приборы и посуда

1. Хроматограф с детектором теплопроводности по ГОСТу 18091, типа ЛХМ-8 Мд, модель 1 или другие хроматографы с детектором теплопроводности.
2. Трубка U-образная (рис. 29 а).
3. Кран стеклянный четырехходовой (рис. 29 б).
4. Термометр со шкалой деления от 0 до 150°С.
5. Электроплитка с переменной мощностью или лабораторный терморегулятор.
6. Весы аналитические или интегратор «Спектр».

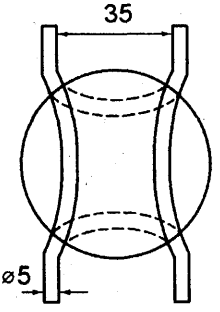
Рис. 29. Схема установки для хроматографического определения гигроскопической влаги



1 – баллон с газом-носителем; 2 – U-образная трубка; 3 – вентиль тонкой регулировки; 4 – четырехходовой кран; 5 – сравнительная ячейка детектора; 6 – самописец; 7 – измерительная ячейка детектора; 8 – измеритель скорости газа-носителя; 9 – термостат



а. U-образная трубка



б. Четырехходовой кран

Диэлькометрический метод определения гигроскопической воды

Сущность метода заключается в измерении электрической емкости датчика, пропорциональной изменению диэлектрической постоянной, зависящей от влажности анализируемого продукта.

Градуировка прибора

Готовят серию образцов анализируемого удобрения с различной влажностью. Для этого образцы удобрения выдерживают в эксикаторах над водными растворами серной кислоты с разной концентрацией.

Для приготовления растворов серной кислоты в колбы, содержащие по 100 $см^3$ воды каждая, приливают 10, 20, 30, 40, 60, 80 $см^3$ серной кислоты плотностью 1,84 $г/см^3$.

Часть массы каждого образца используют для определения воды методом высушивания (см. с. 477), другую часть – для определения показании прибора в соответствии с инструкцией по эксплуатации.

По полученным данным градуируется шкала прибора.

Ход анализа

Пробу удобрения насыпают в кювету, которую помещают в ячейку первичного преобразователя, включают уплотняющее устройство.

Затем включают прибор и по шкале определяют содержание влаги в анализируемом продукте.

За результат анализа принимают среднее арифметическое двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 0,5% при доверительной вероятности $P = 0,95$.

Применяемые приборы, посуда и реактивы

1. Лабораторный влагомер «Калий» или другой аналогичный прибор.
2. Эксикатор по ГОСТу 6371.
3. Кислота серная по ГОСТу 4204, плотностью 1,84 $г/см^3$.

Методы определения минерального азота в удобрениях

Определение в удобрениях содержания аммиачного азота методом открытого кипячения

Определение основано на том, что при кипячении раствора удобрения, содержащего азот в аммонийной форме, с раствором щёлочи образующийся аммиак улетучивается. Его количество эквивалентно количеству щёлочи вступившей в реакцию.

$$(NH_4)_2 SO_4 + 2\ NaOH = Na_2SO_4 + 2\ NH_3\uparrow + 2\ H_2O$$

$$NH_4Cl + NaOH = NaCl + NH_3\uparrow + H_2O.$$

Избыток щёлочи, не вступившей в реакцию, оттитровывают кислотой соответствующей нормальности. В работе используются растворы кислоты и щёлочи точно установленной нормальности.

Ход анализа

Растирают в фарфоровой ступке 30 – 40 г аммиачного удобрения. Берут на технических весах навеску 10 г (в двукратной повторности), переносят в химический стакан объёмом 150 – 200 см^3, растворяют в дистиллированной воде, размешивая стеклянной палочкой. Отфильтровывают раствор в мерную колбу ёмкостью 200 см^3 через воронку диаметром 8 – 10 см, с бумажным обычным фильтром, доводят водой до метки, закрывают и взбалтывают.

Берут пипеткой 25 см^3 фильтрата в колбу коническую объёмом 100 см^3, приливают к нему из бюретки 50 см^3 0,5 н. раствора щёлочи. Перемешивают раствор, закрывают маленькой воронкой (диаметром 2 – 2,5 см), кипятят на электроплитке или горелке, упаривая раствор до 1/3 первоначального объёма под тягой. Раствор охлаждают до комнатной температуры, стенки воронки и колбы омывают холодной дистиллированной водой из промывалки.

Титруют избыток щёлочи 0,5 н. раствором H_2SO_4, из бюретки прибавив 2 – 3 капли фенолфталеина, до перехода малиновой окраски к бесцветной.

Расчёт $$Содержание\ N\ [\%] = \frac{(a \cdot Нщ - b \cdot Нк) \cdot 0{,}014 \cdot P \cdot 100}{H},$$

где a – количество щёлочи, прилитое к раствору удобрения, мл; $H_щ$ – нормальность щёлочи; b – количество серной кислоты пошедшей на титрование, мл; $H_к$ – нормальность серной кислоты; P – разведение 200/25 = 8; $0{,}014$ – мг·экв азота; H – навеска удобрения, г;

Форма записи

Удобрение	Навеска, г	н. щёлочи	мл щёлочи	н. кислоты	мл кислоты	% азота

Реактивы

1. 0,5 н. раствор щёлочи (KOH или NaOH) готовят из фиксанала или 28,06 г NaOH растворяют в дистиллированной воде и доводят объём до 1 литра.
2. 0,5 н. раствор серной кислоты готовят из фиксанала или 14 см^3 конц. H_2SO_4 приливают к 200 – 300 см^3 дистиллированной воды и доводят объём до 1 л.
3. Фенолфталеин. 1%-й раствор фенолфталеина в этиловом спирте-ректификате. Нормальность растворов в данном анализе устанавливают с точностью 0,0001 н.

Определение в удобрениях аммиачного азота формалиновым методом

Определение основано на количественном связывании аммиака с помощью формалина в органическое соединение гексаметилентетрамин $(CH_2)_6N_4$.

Аммиачные удобрения в нейтральной среде при взаимодействии с формалином (водным раствором формальдегида – *HCOH*) образуют минеральную кислоту в количестве, эквивалентном количеству аммиачного азота в анализируемой навеске удобрения. Например:

$$4\ NH_4Cl + 6\ HCOH = (CH_2)_6N_4 + 6\ H_2O + 4\ HCl$$
$$2\ (NH_4)_2\ SO_4 + 6\ HCOH = (CH_2)_6N_4 + 2\ H_2SO_4 + 6\ H_2O$$
$$4\ NH_4NO_3 + 6\ HCOH = (CH_2)_6N_4 + 4\ HNO_3 + 6\ H_2O$$

По количеству образовавшейся кислоты, которая учитывается титрованием щёлочью (NaOH или KOH), определяется процент азота в удобрении.

Ход анализа

Растирают в фарфоровой ступке 30 – 40 г исследуемого удобрения. На технических весах берут навеску 10 г, переносят в стакан ёмкостью 150–200 см^3 и растворяют в небольшом количестве (50–100 см^3) дистиллированной воды.

Фильтруют раствор через воронку диаметром 8 – 10 см с обычным бумажным фильтром в мерную колбу объёмом 250 см^3, доводят водой до метки, закрывают пробкой, взбалтывают.

Берут пипеткой 10 см^3 фильтрата в химический стакан на 100 – 150 см^3, прибавляют 2 – 3 капли индикатора метилоранж. Если появится розовая окраска, указывающая на кислую реакцию раствора, следует нейтрализовать кислотность, прибавляя по каплям 0,1 н. раствор щёлочи до появления жёлтой окраски.

В другой химический стакан объёмом 100 – 150 см^3 приливают цилиндром 10 см^3 20%-го раствора формалина. Так же, как и в испытуемом растворе, проверяют реакцию реактива и, если нужно, нейтрализуют кислотность 0,1 н. раствором щёлочи до жёлтой окраски.

Вливают раствор формалина в стакан с испытуемым раствором и перемешивают. Реакция протекает моментально, от образовавшейся кислоты окраска раствора от жёлтой переходит в розовую.

Прибавляют к раствору 2 – 3 капли фенолфталеина и титруют 0,5 н. раствором щёлочи до второго изменения окраски – от жёлтой (после розовой) к малиновой.

Примечание. Внимательно следят за изменением окраски, так как от присутствия индикаторов (метилоранж, фенолфталеин) цвет раствора при титровании изменяется дважды: 1 – из розового в жёлтый при pH 6,2 по метилоранжу; 2 – из желтого в малиновый при pH 8,2 по фенолфталеину.

Расчет: $$Содержание\ N\ [\%] = \frac{a \cdot H_щ \cdot 0{,}014 \cdot P \cdot 100}{H},$$

где: a – количество щёлочи пошедшей на титрование, см^3; $H_щ$ – нормальность щёлочи; P – разведение 200/10=20; 100 – для выражения данных в процентах; $0{,}014$ – мг·экв азота; H – навеска удобрения, г.

Форма записи

Удобрение	Навеска, г	Разведение	н. щелочи	Количество щёлочи, см^3	% азота
	10	10	0,5	35	24,5

Реактивы

1. Индикаторы: метилоранж (0,5 г растворить в 100 $см^3$ дистиллированной воды), фенолфталеин (1,0 г растворить в 100 $см^3$ этилового спирта).
2. 0,1 н. раствор щёлочи (в капельнице), готовят из фиксанала или 5,6 г KOH или 4 г NaOH растворяют в дистиллированной воде и доводят объём до 1000 $см^3$.
3. 0,5 н. раствор щёлочи (KOH или NaOH), готовят из фиксанала или 28,06 г KOH или 20,0 г NaOH растворяют в дистиллированной воде и доводят объём до 1 $дм^3$. Нормальность щёлочи устанавливают с точностью 0,0001 н.
4. 20%-й раствор формалина.

Метод определения общего азота в аммиачной и амидной формах с отгонкой аммиака (ГОСТ 20851.1)

Сущность метода заключается в минерализации азота серной кислотой в присутствии сернокислых солей меди и калия до аммиачного азота с последующей отгонкой аммиака.

Ход анализа

0,5 – 2 г удобрения, в зависимости от содержания азота, предварительно растертые и взвешенные с погрешностью не более 0,0002 г, помещают в круглодонную колбу из термостойкого стекла (рис. 30).

После этого добавляют 0,7 г сернокислой меди, 10 г сернокислого калия или безводного сернокислого натрия и приливают 10 $см^3$ концентрированной серной кислоты.

Смесь сульфатов меди и калия или натрия добавляют в том случае, если удобрения содержат органический азот помимо карбамида.

Содержимое колбы перемешивают и осторожно нагревают на электрической плитке с асбестовой сеткой или колбонагревателе до прекращения бурного выделения пузырьков газа.

Нагрев увеличивают до слабого кипения жидкости и продолжают нагревать до полного прекращения выделения отдельных пузырьков углекислого газа и появления белых паров серной кислоты. Затем нагревают еще 10 мин, после этого содержимое колбы охлаждают. После охлаждения в колбу осторожно добавляют 200 $см^3$ воды и вновь охлаждают до комнатной температуры.

Затем колбу соединяют через каплеуловитель с холодильником и приемником. Из бюретки в приемник наливают 40 – 50 $см^3$ 0,5 н. раствора серной кислоты, добавляют 3 капли смешанного индикатора с pH 5,1 и небольшое количество воды, чтобы барбатер был закрыт жидкостью.

Из капельной воронки в круглодонную колбу осторожно приливают 50 $см^3$, 40%-го раствора гидроокиси натрия. После прекращения бурной реакции колбу нагревают и раствор кипятят до тех пор, пока из колбы не отгонится 2/3 жидкости. После этого проверяют отсутствие аммиака в конденсаторе, для этого отсоединяют приемник, обмывают барбатер, набирают в пробирку около 1 $см^3$ конденсата и прибавляют несколько капель реактива Несслера. При отсутствии аммиака не должно

появляться желтой окраски. Проверку также можно проводить по индикаторной бумаге до pH 6 – 7.

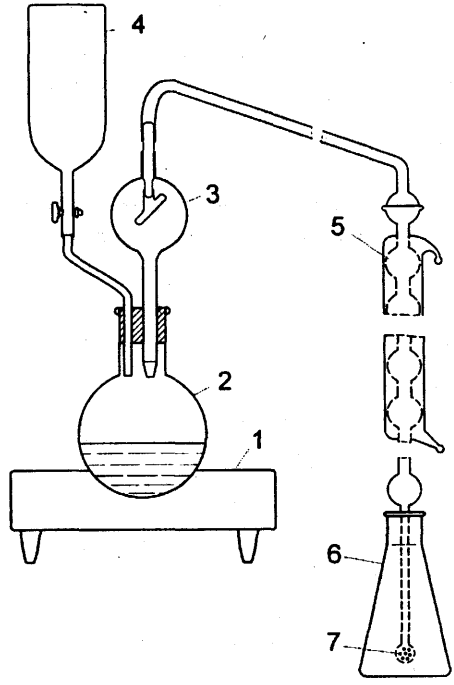


Рис. 30. Прибор для отгонки аммиака:

1 – колбонагреватель;
2 – реакционная колба вместимостью 0,5 – 1,0 л;
3 – каплеуловитель;
4 – капельная воронка с краном;
5 – холодильник;
6 – приемник;
7 – барбатер.

После окончания отгонки приемник с холодильником отсоединяют, холодильник промывают холодной водой, сливая промывные воды в приемник, и избыток кислоты оттитровывают 0,5 н. раствором гидроокиси натрия до изменения окраски от фиолетовой через серую до зеленой.

Одновременно проводят контрольный опыт в тех же условиях и с тем же количеством реактивов, но без анализируемого продукта. Массу навески анализируемого удобрения и количество реактивов указывают в стандартах и технических условиях, устанавливающих технические требования на удобрение.

Массовую долю общего азота (X) в процентах вычисляют по формуле

$$X = \frac{(V - V_1) \cdot 0{,}007 \cdot 100}{m},$$

где V – объем точно 0,5 н. раствора гидроокиси натрия, израсходованный на титрование избытка кислоты в контрольном опыте, см^3; V_1 – объем точно 0,5 н. раствора гидроокиси натрия, израсходованный на титрование

избытка кислоты в анализируемой пробе, $см^3$; *0,007* – масса азота, соответствующая 1 $см^3$ точно 0,5 н. раствора гидроокиси натрия, г; *m* – масса навески, г.

За результат анализа принимают среднее арифметическое двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 0,2% при доверительной вероятности $P = 0,95$.

Приборы, реактивы и растворы

1. Прибор для отгонки аммиака (рис. 30) или другой аналогичный.
2. Вода дистиллированная по ГОСТу 6709.
3. Кислота серная по ГОСТу 4204, концентрированная и 0,5 н. раствор.
4. Натрия гидроокись по ГОСТу 4328, 40%-й и 0,5 н. растворы.
5. Метиловый красный (индикатор) по ГОСТу 5853.
6. Спирт этиловый по ГОСТу 17299 или по ГОСТу 18300.
7. Индикатор смешанный pH 5,4; готовят смешиванием метилового красного и метиленового голубого по ГОСТу 4919.1.
8. Реактив Несслера, готовят по ГОСТу 4517.
9. Калий сернокислый (ГОСТ 4145) или натрий сернокислый кристаллический (ГОСТ 4171).
10. Медь сернокислая по ГОСТу 4165.
11. Метиленовый голубой (индикатор).
12. Индикаторная бумага универсальная.

Метод определения общего азота в аммиачной и амидной формах без отгонки аммиака (ГОСТ 20851.1)

Сущность метода заключается в минерализации азота серной кислотой до аммиачного азота с последующим взаимодействием его с формальдегидом и титрованием выделившейся кислоты гидроокисью натрия.

Ход анализа

1 – 2,5 г удобрения, в зависимости от содержания азота, взвешивают (с погрешностью не более 0,0002 г) и помещают в коническую колбу из термостойкого стекла вместимостью 250 $см^3$, прибавляют 5 – 10 $см^3$ концентрированной серной кислоты.

Если удобрения жидкие, то 25 $см^3$ продукта помещают в мерную колбу вместимостью 250 $см^3$, доводят объем водой до метки, отбирают пипеткой 10 $см^3$ раствора и помещают в колбу из термостойкого стекла.

Содержимое колбы перемешивают и осторожно нагревают на колбонагревателе или электроплитке (с асбестовой сеткой) до прекращения бурного выделения пузырьков углекислого газа. Затем нагрев увеличивают и кипятят до полного прекращения выделения отдельных пузырьков углекислого газа и появления белых паров серной кислоты, нагревают еще 10 мин, после этого содержимое колбы охлаждают. После охлаждения в колбу осторожно приливают 50 $см^3$ воды, добавляют 1 –

2 капли индикатора метилового красного и нейтрализуют избыток кислоты 5 н. раствором гидроокиси натрия до перехода розовой окраски раствора в желтую. Затем по каплям добавляют 0,5 н. раствор серной кислоты до появления розового оттенка.

К нейтрализованному раствору прибавляют 20 – 40 $см^3$ 25%-го раствора формалина, 5 капель смешанного индикатора с pH 9,6 и через 1 – 2 мин титруют выделившуюся кислоту 0,5 н. или 1 н. раствором гидроокиси натрия до появления малиновой окраски, не исчезающей в течение 1 – 1,5 мин.

Раствор после прибавления формалина приобретает розовую окраску. По мере титрования окраска раствора переходит вначале в желтый цвет, а затем в малиновый, что указывает на конец титрования.

Массу навески анализируемого удобрения, условия растворения и титрования указывают в стандартах и технических условиях, устанавливающих технические требования на удобрения.

Общую массовую долю азота (X') в процентах вычисляют по формуле:

$$X' = \frac{V \cdot K \cdot 100}{m},$$

Общую массовую долю азота в жидких удобрениях (X''_1) в процентах вычисляют по формуле

$$X'' = \frac{V \cdot K \cdot 250 \cdot 100}{25 \cdot \rho \cdot 10},$$

где V – объем точно 1 н. или 0,5 н. раствора гидроокиси натрия, израсходованный на титрование, $см^3$; K – масса азота, соответствующая 1 $см^3$ раствора гидроокиси натрия (для 0,5 н. раствора К = 0,007, для 1 н. раствора K = 0,014), г; m – масса навески, г; ρ – плотность жидких удобрений при 20°С, определяемая в стандартах на жидкие удобрения, $г/см^3$.

За результат анализа принимают среднее арифметическое двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 0,2% при доверительной вероятности P = 0,95.

Приборы, реактивы и растворы

1. Вода дистиллированная по ГОСТу 6709.
2. Кислота серная по ГОСТу 4204, концентрированная и 0,5 н. раствор.
3. Натрия гидроокись по ГОСТу 4328,5 и 0,5 н. растворы.
4. Метиловый красный (индикатор) по ГОСТу 5853, готовят по ГОСТу 1919.1.
5. Спирт этиловый по ГОСТу 17299 или по ГОСТу 18300.
6. Фенолфталеин (индикатор) (ГОСТ 5850), готовят по ГОСТу 4919.1.
7. Тимолфталеин (индикатор).
8. Индикатор смешанный pH 9,6; готовят следующим образом: в 100 $см^3$ этилового спирта растворяют 0,5 г фенолфталеина и 0,5 г тимолфталеина.
9. Формалин технический (ГОСТ 1625), 25%-й раствор, перед использованием нейтрализованный по фенолфталеину до слабо-розовой окраски.

Метод определения нитратного азота (титриметрический) (ГОСТ 20851.1)

Сущность метода заключается в восстановлении нитратного азота раствором закисного сернокислого железа в кислой среде в присутствии молибденовокислого аммония в качестве катализатора с последующим титрованием избытка закисного сернокислого железа раствором марганцовокислого калия.

Метод неприменим в присутствии окислителей и восстановителей.

Ход анализа

2 г удобрения взвешивают с погрешностью не более 0,001 г, помещают в мерную колбу вместимостью 500 см^3, добавляют 450 см^3 воды, закрывают пробкой и взбалтывают 10 мин. Объем раствора доводят водой до метки, тщательно перемешивают и фильтруют через сухой фильтр, отбрасывая первые порции фильтрата. Отбирают 20 см^3 полученного раствора в коническую колбу вместимостью 500 см^3, добавляют 20 см^3 полученного раствора закисного сернокислого железа, 5 см^3 раствора молибденовокислого аммония и 10 см^3 раствора серной кислоты, разбавленной 1:1. Затем через раствор в течение 10 мин пропускают двуокись углерода.

Допускается вместо двуокиси углерода применять смесь солей, при этом закрывают колбу с раствором пробкой с газообразной трубкой и вносят отдельными порциями 10 г смеси солей, следя за тем, чтобы не прекращалось выделение двуокиси углерода.

Через 10 минут в колбу приливают 40 см^3 раствора серной кислоты, разбавленной 1:1, добавляют 1 г углекислого кислого натрия и закрывают колбу пробкой с газоотводной трубкой.

После прекращения выделения углекислого газа раствор нагревают до кипения и кипятят в течение 3 минут до появления желто-оранжевой окраски раствора.

Колбу с раствором быстро охлаждают струей холодной воды, ополаскивают газоотводную трубку, добавляя промывную воду к основному раствору, доводят объем до 350 см^3 и титруют избыток закисного сернокислого железа раствором марганцовокислого калия до появления розовой окраски раствора, не исчезающей в течение 10 секунд.

Одновременно проводят контрольный опыт в тех же условиях и с тем же количеством реактивов, но без анализируемой пробы.

Массовую долю нитрата азота (X) в процентах вычисляют по формуле:

$$X = \frac{(V_1 - V_2) \cdot 0{,}0004669 \cdot V_3 \cdot 100}{m \cdot V},$$

где V – объем раствора пробы, взятый для анализа, см^3; V_1 – объем раствора марганцовокислого калия, израсходованного на титрование в контрольном опыте, см^3; V_2 – объем раствора марганцовокислого калия,

израсходованный на титрование анализируемого раствора, $см^3$; V_3 – вместимость мерной колбы, $см^3$; *0,0004669* – масса азота, соответствующая 1 $см^3$ раствора точной концентрации *с (1/5 $KMnO_4$)* = 0,1 моль/$дм^3$ марганцовокислого калия, г; *m* – масса навески, г.

За результат принимают среднее арифметическое двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 0,2% при доверительной вероятности $P = 0,95$.

Аппаратура, реактивы и растворы

1. Поглотитель стеклянный, заполненный силикагелем.
2. Бумага фильтровальная по ГОСТу 12026, средней плотности.
3. Кислота серная по ГОСТу 4204, «ч.д.а.», 96%-й раствор и разбавленная 1:1.
4. Натрий углекислый кислый по ГОСТу 4201, «ч.д.а.».
5. Натрий хлористый по ГОСТу 4233, «ч.д.а.»
6. Раствор аммония молибденовокислого, приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.
7. Калий марганцовокислый (ГОСТ 20490), «ч.д.а.», раствор 0,1 моль/$дм^3$ (0,1 н.).
8. Вода дистиллированная по ГОСТу 6709.
9. Раствор железа (II) сернокислого 7-водного концентрации 0,2 моль/$дм^3$ (0,2 н.); приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.
10. Смесь солей; готовят следующим образом: 300 г углекислого кислого натрия помещают в фарфоровую чашку, добавляют при перемешивании 80 $см^3$ воды и 10 $см^3$ 96%-й серной кислоты. После растворения соли раствор упаривают и сушат при 100°С, периодически перемешивая во избежание образования сплошной спекшейся массы.
11. Двуокись углерода газообразная (ГОСТ 8050), предварительно очищенная в поглотителе с силикагелем.

Метод определения суммы аммиачного и нитратного азота (метод Деварда) (ГОСТ 20851.1)

Сущность метода заключается в восстановлении нитратного азота до аммиачного сплавом Деварда с последующей отгонкой аммиака и его титриметрическим определением.

Ход анализа

1,5 – 2 г удобрения в зависимости от содержания азота взвешивают с погрешностью не более 0,0002 г, помещают в мерную колбу вместимостью 250 $см^3$, доливают до метки водой и перемешивают. Мутные растворы фильтруют через фильтр «синяя лента». Затем откалиброванной пипеткой отбирают 50 $см^3$ раствора и переносят в реакционную колбу (см. рис. 30), навеска удобрения может быть внесена непосредственно в реакционную колбу, если удобрение полностью растворимо. Проба, вносимая в реакционную колбу, должна содержать не более 60 мг нитратного азота. После этого в колбу добавляют 2 – 3 г сплава Деварда и 100 – 300 $см^3$ воды. Колбу соединяют через каплеуловитель с холодильником и приемником.

Из бюретки в приемник наливают 25 – 50 $см^3$ 0,5 н. или 0,1 н. раствора серной кислоты, добавляют 3 капли смешанного индикатора и

небольшое количество воды для того, чтобы барбатер был закрыт жидкостью.

В круглодонную колбу из капельной воронки осторожно приливают 40 $см^3$ 40%-го раствора гидроокиси натрия. После прекращения бурной реакции колбу нагревают на электроплитке и кипятят раствор до тех пор, пока не отгонится 2/3 жидкости из колбы. После этого проверяют отсутствие аммиака в конденсате, для этого отсоединяют приемник, обмывают конец барбатера, набирают в пробирку около 1 $см^3$ конденсата и прибавляют несколько капель реактива Несслера.

При отсутствии аммиака не должно появляться желтой окраски. После окончания отгонки приемник с холодильником отсоединяют, промывают холодной водой, сливая промывные воды в приемник, и избыток кислоты оттитровывают 0,5 или 0,1 н. раствором гидроокиси натрия в присутствии смешанного индикатора до изменения окраски от фиолетовой через серую до зеленой.

Одновременно проводят контрольный опыт в тех же условиях и с тем же количеством реактивов, но без анализируемого продукта.

Азот в контрольном опыте определяют ежедневно и при применении новых реактивов. Масса навески анализируемого удобрения, условия растворения и количество реактивов указывают в стандартах и технических условиях, устанавливающих технические требования на удобрение.

Массовую долю азота в удобрении (X) в процентах вычисляют по формуле

$$X = \frac{(V - V_1) \cdot K \cdot 250 \cdot 100}{m \cdot 50},$$

где V – объем точно 0,5 н. или 0,1 н. раствора гидроокиси натрия, израсходованный на титрование избытка кислоты в контрольном опыте, $см^3$; V_1 – объем точно 0,5 н. или 0,1 н. раствора гидроокиси натрия, израсходованный на титрование избытка кислоты в анализируемой пробе, $см^3$; K – количество азота, соответствующее 1 $см^3$ раствора гидроокиси натрия (для 0,5 н. раствора K = 0,007, для 0,1 н. раствора К=0,0014), г; m – масса навески, г.

За результат анализа принимают среднее арифметическое двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 0,3% при доверительной вероятности P=0,95.

Приборы, реактивы и растворы

1. Прибор для отгонки аммиака (рис. 30).
2. Электрическая плитка по ГОСТу 306 или колбонагреватель.
3. Натрия гидроокись по ГОСТу 4328, 40%-й, 0,5 и 0,1 н. растворы.
4. Реактив Несслера, готовят по ГОСТу 4517.
5. Сплав Деварда, растертый в металлической ступке до размера частиц приблизительно 1 мм.
6. Метиловый красный (индикатор) по ГОСТу 5853.
7. Метиленовый голубой (индикатор).
8. Вода дистиллированная по ГОСТу 6709.

9. Кислота серная по ГОСТу 4204, 0,5 н. и 0,1 н растворы.
10. Спирт этиловый технический по ГОСТу 17299.
11. Индикатор смешанный, готовят следующим образом: 100 см^3 0,03%-го раствора метилового красного в 70%-м этиловом спирте смешивают с 15 см^3 0,1%-го раствора метиленового голубого в воде.

Метод определения амидного азота (спектрофотометрический) (ГОСТ 20851.1)

Сущность метода заключается в измерении интенсивности окраски комплекса, образуемого амидным азотом с *п*-диметиламинобензальдегидом.

Метод неприменим для удобрений, содержащих элементы, образующие окрашенные соединения с *п*-диметиламинобензальдегидом.

Ход анализа

10 г удобрения взвешивают с погрешностью не более 0,001 г помещают в мерную колбу вместимостью 250 см^3, добавляют 150 – 200 см^3 воды и 10 см^3 20%-го раствора соляной кислоты, тщательно перемешивают в течение 10-15 мин, доводят объем раствора водой до метки и вновь перемешивают. Раствор фильтруют через фильтр средней плотности, отбрасывая первые порции фильтрата.

20 см^3 полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 см^3, добавляют 10 см^3 раствора n-диметиламинобензальдегида, доводят объем раствора до метки водой и тщательно перемешивают. Через 15 мин измеряют оптическую плотность полученного раствора по отношению к раствору сравнения в кювете с толщиной поглощающего свет слоя раствора 1 см при длине волны 420 нм.

По полученной оптической плотности, пользуясь *градуировочным графиком*, находят содержание мочевины в миллиграммах.

Массовую долю амидного азота (X) в процентах вычисляют по формуле

$$X = \frac{a \cdot V \cdot 100 \cdot 0{,}4665}{m \cdot V_1 \cdot 1000},$$

где a – масса мочевины, найденная по градуировочному графику, мг; V – вместимость мерной колбы, см^3; V_1 – объем отбираемого для анализа раствора, см^3; m – масса навески, г; $0{,}4665$ – коэффициент пересчета мочевины на амидный азот.

За результат анализа принимают среднее арифметическое двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 0,3% при доверительной вероятности $P = 0{,}95$.

Построение градуировочного графика

Для построения градуировочного графика в мерные колбы вместимостью 100 см^3 каждая последовательно помещают 20, 25, 30, 35 и 40 см^3 раствора сравнения.

Одновременно готовят контрольный раствор, не содержащий мочевины.
В каждую колбу добавляют 10 $см^3$ раствора *п*-диметиламинобензальдегида, доводят объем раствора водой до метки и тщательно перемешивают. Через 15 мин измеряют оптическую плотность растворов сравнения по отношению к контрольному раствору в кюветах с толщиной поглощающего свет слоя 1 см при длине волны 420 нм.
По полученным данным строят градуировочный график, откладывая по оси абсцисс содержание мочевины в растворах сравнения в миллиграммах. А по оси ординат – соответствующие им значения оптических плотностей.
Градуировочный график рекомендуется проверять ежедневно.

Приборы, реактивы и растворы

1. Спектрофотометр или фотоколориметр.
2. *п*-диметиламинобензальдегид; готовят следующим образом: 4 г *п*-диметиламинобензальдегида, взвешенного с погрешностью не более 0,001 г, помещают в мерную колбу вместимостью 1 $дм^3$, прибавляют 40 $см^3$ концентрированной соляной кислоты, объем раствора доводят водой до метки, перемешивают и оставляют на 3 дня, после чего фильтруют. Раствор устойчив в течение месяца.
3. Кислота соляная по ГОСТу 3118, «ч.д.а.», концентрированная и 20%-й раствор.
4. Вода дистиллированная (ГОСТ 6709).
5. Раствор сравнения, содержащий 8 г мочевины в 1 $см^3$ раствора; готовят следующим образом: 8 г мочевины, высушенной при 90°С до постоянной массы, взвешивают с погрешностью не более 0,001 г, переносят в мерную колбу вместимостью 1 $дм^3$, растворяют в воде и доводят объем раствора водой до метки.

Формальдегидный метод определения аммиачного азота (ГОСТ 20851.1)

Сущность метода заключается во взаимодействии аммиачного азота с формальдегидом с образованием гексаметилентетрамина и эквивалентного количества кислоты, которую определяют титриметрическим методом.

Ход анализа

10 г удобрения взвешивают с погрешностью не более 0,001 г, помещают в мерную колбу вместимостью 500 $см^3$, растворяют в воде, доводят объем водой до метки и тщательно перемешивают. 25 $см^3$ полученного раствора переносят пипеткой в коническую колбу вместимостью 250 $см^3$ и в присутствии смешанного индикатора нейтрализуют 0,1 н. раствором гидроокиси натрия в присутствии фенолфталеина до слабо-розовой окраски.

Затем в колбу приливают 25 $см^3$ раствора формалина, предварительно нейтрализованного раствором гидроокиси натрия в присутствии фенолфталеина и через 1 мин титруют 0,1 н. раствором гидроокиси натрия в присутствии фенолфталеина до появления слабо-розовой окраски, устойчивой в течение 1 мин.

Массовую долю аммиачного азота (X) в процентах вычисляют по формуле

$$X = \frac{V \cdot K \cdot 500 \cdot 100}{m \cdot 25},$$

где V – объем точно 0,1 н. или 0,25 н. раствора гидроокиси натрия, израсходованный на титрование, см^3; K – количество азота, соответствующее 1 см^3 раствора гидроокиси натрия, г (для 0,1 н. раствора К = 0,0014); m – масса навески, г.

За результат анализа принимают среднее арифметическое двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 0,2% при доверительной вероятности Р = 0,95.

Приборы, реактивы и растворы

1. Вода дистиллированная (ГОСТ 6709).
2. Натрия гидроокись по ГОСТу 4328, 0,1 н., 0,25 н. растворы.
3. Индикатор смешанный: готовят смешиванием метилового красного и метиленового голубого по ГОСТу 4919.1.
4. Фенолфталеин (индикатор, ГОСТ 5850); готовят по ГОСТу 4919.1.
5. Формалин по ГОСТу 1625, 15 и 25%-й растворы.
6. Метиловый красный (индикатор, ГОСТ 5853).
7. Метиленовый голубой (индикатор).

Метод определения суммы аммиачного и амидного азота (гипохлоритный) (ГОСТ 20851.1)

Сущность метода заключается в окислении аммиачного и амидного азота до элементарного азота гипохлоритом кальция в присутствии бромида калия в бикарбонатной среде.

Избыток гипохлорита определяют йодометрическим методом.

Ход анализа

1 – 2,5 г удобрения, содержащего азот в аммиачной и амидной формах, взвешивают с погрешностью не более 0,0002 г, переносят в мерную колбу вместимостью 250 см^3, прибавляют 10 см^3 соляной кислоты, объем раствора доводят до метки водой и тщательно перемешивают.

5 см^3 полученного раствора переносят пипеткой в колбу для титрования вместимостью 250 см^3, нейтрализуют 0,1 н. раствором гидроокиси натрия в присутствии 2 – 3 капель метилового оранжевого до перехода окраски раствора в желтую, прибавляют 5 см^3 раствора двууглекислого натрия, 5 см^3 бромистого калия, и, перемешивая содержимое колбы добавляют пипеткой 25 см^3 раствора гипохлорита кальция. Колбу закрывают пробкой и оставляют стоять 5 – 7 минут. Затем прибавляют 5 см^3 раствора йодистого калия, перемешивают, прибавляют 10 см^3 раствора серной кислоты.

Колбу быстро закрывают пробкой и выдерживают в темном месте в течение 10 мин. Выделившийся йод титруют раствором тиосульфата натрия, прибавляя в конце титрования 0,5 см^3 крахмала после изменения окраски в соломенный цвет и титруя до исчезновения синей окраски.

Одновременно проводят контрольный опыт в тех же условиях и с тем же количеством реактивов, но без анализируемого продукта. Масса навески удобрения и условия растворения должны быть указаны в стандартах и технических условиях, устанавливающих технические требования на удобрение.

Массовую долю азота (X) в процентах вычисляют по формуле:

$$X = \frac{(V - V_1) \cdot 0{,}000467 \cdot 250 \cdot 100}{m \cdot 5},$$

где V – объем точно 0,1 н раствора тиосульфата натрия. Израсходованный на титрование контрольного опыта, см^3; V_1 – объем точно 0,1 н. раствора тиосульфата натрия, израсходованный на титрование анализируемого раствора см^3; m – масса навески, г; 0,000467 – количество азота, соответствующее 1 см^3 точно 0,1 н. раствора тиосульфата натрия, г.

За результат анализа принимают среднее арифметическое двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 0,2% при доверительной вероятности $P = 0{,}95$.

Приборы, реактивы и растворы

1. Вода дистиллированная по ГОСТу 6709.
2. Калий бромистый по ГОСТу 4160, «х.ч.», 8%-й раствор.
3. Калий йодистый по ГОСТу 4232, «х.ч.», 20%-й раствор.
4. Натрий двууглекислый по ГОСТу 4201, «ч.д.а.», 8%-й раствор.
5. Кислота серная по ГОСТу 4204, «х.ч.», 20%-й раствор.
6. Кислота соляная по ГОСТу 3118, «х.ч.», 6 н. раствор.
7. Метиловый оранжевый (индикатор) по ГОСТу 10816, готовят по ГОСТу 4919.1.
8. Натрий серноватистькислый (тиосульфат натрия) по СТ СЭВ 223-75, 0,1 н. раствор.
9. Известь хлорная по ГОСТу 1692.
10. Раствор гипохлорита кальция; готовят следующим образом: 13 г хлорной извести помещают в мерную колбу вместимостью 1 дм^3. прибавляют 500 см^3 воды и встряхивают для растворения реактива. Затем объем раствора доводят до метки водой, перемешивают и фильтруют через складчатый фильтр в темную склянку.
11. Натрия гидроокись по ГОСТу 4328, 0,1 н. раствор.
12. Крахмал растворимый по ГОСТу 10163, 1%-й раствор.

Метод определения аммиачного азота (хлораминовый) (ГОСТ 20851.1)

Сущность метода заключается в окислении аммиачного азота хлорамином до элементарного в присутствии фосфатного буферного раствора с pH 6,7 и бромистого калия. Избыток хлорамина определяют йодометрически.

Ход анализа

1 – 2 г удобрения взвешивают с погрешностью не более 0,001 г, помещают в мерную колбу вместимостью 250 см^3, приливают 10 см^3 раствора соляной кислоты, кипятят 5 минут, охлаждают, доводят водой

до метки и перемешивают. 10 $см^3$ полученного раствора переносят пипеткой в коническую колбу вместимостью 250 $см^3$, прибавляют 2 $см^3$ раствора гидроокиси натрия, 10 $см^3$ буферного раствора, перемешивают и по стенкам колбы пипеткой приливают 5 $см^3$ раствора хлорамина. Колбу закрывают пробкой, перемешивают и оставляют стоять на 10 минут.

Затем прибавляют 3 $см^3$ раствора йодистого калия, 10 $см^3$ раствора серной кислоты, снова закрывают пробкой, оставляют в темном месте на 3-5 минут и титруют раствором тиосульфата натрия в присутствии 0,5 $см^3$ раствора крахмала, прибавляемого в конце титрования после появления слабо-желтой окраски раствора. Титрование продолжают до обесцвечивания раствора.

Одновременно проводят контрольный опыт с дистиллированной водой и с тем же количеством реактивов, но без анализируемого продукта, соблюдая указанную выше последовательность прибавления всех реактивов.

Масса навески удобрения и условия растворения должны быть указаны в стандартах и технических условиях, устанавливающих технические требования на удобрение.

Массовую долю азота (X) в процентах вычисляют по формуле

$$X = \frac{(V - V_1) \cdot 0{,}000467 \cdot 250 \cdot 100}{m \cdot 10},$$

где V – объем точно 0,1 н. раствора тиосульфата натрия, израсходованный на титрование в контрольном опыте, $см^3$; V_1 – объем точно 0,1 н. раствора тиосульфата натрия, израсходованный на титрование анализируемого раствора, $см^3$; m – масса навески, г; $0{,}000467$ – количество азота, соответствующее 1 $см^3$ точно 0,1 н. раствора тиосульфата натрия, г.

За результат анализа принимают среднее арифметическое двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 0,3% при доверительной вероятности $P = 0{,}95$.

Приборы, реактивы и растворы

1. Вода дистиллированная (ГОСТ 6709).
2. Раствор буферный фосфатный с бромистым калием; приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ.
3. Калий йодистый (ГОСТ 4232), 20%-й раствор; готовят следующим образом: 20 г йодистого калия взвешивают с погрешностью не более 0,1 г, растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 100 $см^3$, прибавляют 0,5 $см^3$ раствора гидроокиси натрия. Доливают водой до метки, перемешивают и сохраняют в темной склянке.
4. Кислота серная по ГОСТу 4204, 6 н. раствор.
5. Кислота соляная по ГОСТу 3118, 20%-й раствор.
6. Крахмал растворимый по ГОСТу 10163, 1%-й раствор.
7. Натрия гидроокись по ГОСТу 4328, 1 н. раствор.
8. Натрий серноватистокислый (тиосульфат натрия) по СТ СЭВ 223-75, «ч.д.а.», и 0,1 н. раствор.

9. Хлорамин Б или Т; 0,6 н. раствор; готовят следующим образом: 84,5 г хлорамина взвешивают с погрешностью не более 0,1 г, помещают в колбу вместимостью 1 л, доливают водой до метки, перемешивают и фильтруют в темную склянку с притертой пробкой.

Метод определения общего азота дистилляционным методом с восстановлением нитратного азота хромом и минерализацией органического азота (ГОСТ 20851.1)

Сущность метода заключается в восстановлении нитратного азота до аммонийного порошком хрома в солянокислой среде, в гидролизе амидного азота в аммонийный концентрированной серной кислотой, минерализации органического азота в аммонийный концентрированной серной кислотой в присутствии катализатора, в отгонке аммиака из щелочного раствора, в абсорбции аммиака избытком титрованного раствора серной кислоты и обратном титровании избытка кислоты титрованным раствором гидроокиси натрия.

Ход анализа

Массу навески анализируемой пробы, содержащей не более 60 мг нитратного и 235 мг общего азота, устанавливают в стандарте на конкретный вид удобрения.

Для восстановления нитратного азота в аммонийный навеску анализируемой пробы переносят в реакционную колбу (см. рис. 30), добавляют 35 $см^3$ воды, выдерживают в течение 10 мин, периодически слегка помешивая содержимое до растворения всех нитратов, затем добавляют 1,2 г порошка хрома, взвешенного с погрешностью не более 0,1 г, 7 $см^3$ соляной кислоты и выдерживают колбу в течение 5-10 минут при комнатной температуре. Затем колбу нагревают в течение 4 – 5 мин на колбонагревателе, отрегулированном таким образом, чтобы 250 $см^3$ воды с начальной температурой 25°С закипало в течение 7 – 7,5 мин.

При отсутствии в удобрении органического азота гидролизуют амидный азот в аммонийный следующим образом: колбу с навеской анализируемой пробы помещают в вытяжной шкаф, вносят в колбу несколько «кипелок», осторожно добавляют 25 $см^3$ концентрированной серной кислоты, закрывают колбу полой грушевидной стеклянной пробкой и устанавливают колбу на колбонагреватель, отрегулированный таким образом, чтобы 250 $см^3$ воды с начальной температурой 25°С закипало в течение 20-30 мин. Содержимое колбы доводят до легкого кипения и кипятят до полного прекращения выделения белых паров, после чего кипятят в течение 15 мин. Затем колбе дают остыть. Осторожно добавляют 250 $см^3$ воды и вновь охлаждают до комнатной температуры.

Если в состав удобрения входит органический азот или состав удобрения неизвестен, минерализацию проводят следующим образом:

колбу с навеской анализируемой пробы помещают в вытяжной шкаф, добавляют 22 г катализатора, взвешенного с погрешностью не более 0,1 г, несколько «кипелок», осторожно добавляют 25 $см^3$ концентрированной серной кислоты и одну каплю вещества, снижающего пенообразование. После этого закрывают колбу полой грушевидной стеклянной пробкой и устанавливают на колбонагреватель, отрегулированный таким образом, чтобы 250 $см^3$ воды с начальной температурой 25°С закипало в течение 20-30 мин.

При интенсивном пенообразовании уменьшают нагрев. После прекращения образования пены нагрев увеличивают до кипения и кипятят до полного прекращения выделения плотных паров серной кислоты, после чего содержимое колбы слегка перемешивают и кипятят еще в течение 60 мин. По окончании нагревания содержимое колбы охлаждают, осторожно добавляют 250 $см^3$ воды и вновь охлаждают до комнатной температуры.

Собирают прибор, как указано на рис. 30 (с. 490).

Перед соединением в приемник помещают отобранный бюреткой титрованный раствор серной кислоты. Объем и концентрация отобранной серной кислоты зависит от массы общего азота в навеске и определяются по таблице.

Затем добавляют в приемник 4 – 5 капель раствора, смешанного индикатора и устанавливают его так, чтобы срез выводной трубки холодильника был ниже поверхности кислоты, при необходимости добавляют воду.

После этого в капельную воронку помещают 100 $см^3$ раствора, содержащего 400 $г/дм^3$ гидроокиси натрия и осторожно вводят этот раствор в реакционную колбу. Затем закрывают кран, оставив в капельной воронке около 2 $см^3$ раствора, и добавляют в нее 30 $см^3$ воды. После прекращения бурной реакции в реакционной колбе постепенно усиливают нагревание ее, доводят содержимое колбы до интенсивного кипения и кипятят раствор до тех пор, пока отгонится около 150 $см^3$ дистиллята.

После этого приемник опускают так, чтобы срез выводной трубки опирался о край ее горловины, и последующий дистиллят испытывают на полноту отгонки аммиака при помощи индикаторной бумаги, затем источник тепла удаляют.

Чтобы избежать выброса содержимого реакционной колбы, насыщенный раствор гидроокиси натрия после его слива тщательно перемешивают.

Каплеуловитель отсоединяют от холодильника и промывают холодильник, расширитель и внешнюю стенку выводной трубки водой, собирая промывную воду в приемник.

Избыточное количество кислоты оттитровывают раствором гидроокиси натрия концентрацией 0,1 моль/дм^3 до нейтрального окрашивания индикатора.

Одновременно проводят контрольный опыт в тех же условиях и с тем же количеством реактивов, но без анализируемой пробы, применяя титрованной раствор серной кислоты концентрацией 0,1 моль/дм^3. Разница между количеством титрованного раствора серной кислоты и количеством титрованного раствора гидроокиси натрия, израсходованного при контрольном опыте, не должна превышать 1 см^3, в противном случае проверяют реактивы, особенно порошок хрома.

Массовую долю общего азота (X) в процентах вычисляют по формуле

$$X = \frac{(K \cdot V_1 - V_2) - (V_3 - V_4) \cdot 0{,}0014 \cdot 100}{m},$$

где K – коэффициент, зависящий от концентрации используемого при анализе титрованного раствора серной кислоты (табл. 34); V_1 – объем титрованного раствора серной кислоты, используемый для анализируемой пробы, см^3; V_2 – объем титрованного раствора серной кислоты, использованный для анализируемой пробы, см^3; V_3 – объем титрованного раствора серной кислоты, отобранный для контрольного опыта, см^3; V_4 – объем титрованного раствора гидроокиси натрия, израсходованный на титрование избытка серной кислоты в контрольном опыте, см^3; m – масса навески пробы, г; *0,0014* – масса азота, соответствующая 1 см^3 титрованного раствора гидроокиси натрия, г.

34. К – Коэффициент, зависящий от концентрации титрованного раствора*

Масса общего азота в навеске, мг	Концентрация серной кислоты	Объем серной кислоты, см^3	К*
До 30	c (1/2 H_2SO_4) =	25	
Свыше 30 до 50 вкл.	= 0,1 моль/дм^3	40	1
Свыше 50 до 65 вкл.	(0,1 н.)	50	
Свыше 50 до 65 вкл.	c (1/2 H_2SO_4) =	35	
Свыше 50 до 65 вкл.	= 0,2 моль/дм^3	40	2
Свыше 50 до 65 вкл.	(0,2 н.)	50	
Свыше 50 до 65 вкл.	c (1/2 H_2SO_4) =	25	
Свыше 50 до 65 вкл.	= 0,5 моль/дм^3	30	5
Свыше 50 до 65 вкл.	(0,5 н.)	35	

За результат анализа принимают среднее арифметическое двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 0,3% при доверительной вероятности P=0,95.

Аппаратура, реактивы и растворы

1. Прибор дистилляционный (рис. 30) или другой соответствующий ему прибор.
2. Приемник и барбатер. Проверку работы прибора проводят периодически следующим образом: взвешивают пробу сульфата аммония, содержащую 100 мг азота с погрешностью не более 0,0002 г, и проводят анализ.
3. Встряхиватель механический, ротационный или реверсивный.

4. Бюретка по ГОСТу 20292, вместимостью 50 $см^3$.
5. Приспособление против бурного кипения – «кипелки», представляющие собой стеклянную трубку размером 100 × 5 мм с полиэтиленовой трубкой длиной 25 мм на конце, или стеклянные шарики диаметром 305 мм, или кусочки пористого материала, устойчивые в данной среде (пемза, гранулы Al_2O_3 и т.п.).
6. Колбонагреватель.
7. Хром металлический, порошок технпический, марки ПХ 1С.
8. Вещество, снижающее пенообразование, например, парафин или масло силиконовое.
9. Катализатор тонкомолотый для минерализации органического вещества; готовят следующим образом: смешивают 1000 г сернокислого калия (ГОСТ 4145, «ч.д.а.») и 50 г сернокислой меди (II) 5-водной (ГОСТ 4165, «ч.д.а.»), взвешенные с погрешностью не более 1 г.
10. Кислота серная по ГОСТу 4204, «ч.д.а.», концентрированная и титрованные растворы: 0,2 моль/$дм^3$ (0,2 н.), 0,5 моль/$дм^3$ (0,5 н.) и 0,1 моль/$дм^3$ (0,1 н.).
11. Аммоний сернокислый по ГОСТу 3769, «ч.д.а.», высушенный при 105°С до постоянной массы.
12. Вода дистиллированная по ГОСТу 6709.
13. Индикатор смешанный (pH 5,4) спиртовой раствор; готовят по ГОСТу 4919.1.
14. Кислота соляная по ГОСТу 3118, «ч.д.а.», концентрированная.
15. Натрия гидроокись по ГОСТу 4328, «ч.д.а.», раствор. Содержащий 400 г/$см^3$ гидроокиси натрия, и титрованный раствор $c(NaOH)$=0,1 моль/$дм^3$ (0,1 н.).
16. Бумага универсальная индикаторная или реактив Несслера.

Методы определения содержания фосфора (ГОСТ 20851.2)

Общие требования

При проведении анализа применяют реактивы квалификации чистый для анализа («ч.д.а.») и дистиллированную воду по ГОСТу 6709 и мерную посуду, откалиброванную по ГОСТу 8.100.

Методы извлечения фосфора из удобрений и методы анализа, применяемые для определения фосфора, приведены в табл. 35 и 36.

Отбор и подготовка проб

Пробу отбирают в соответствии с ГОСТом 21560.0 и нормативно-техническими документами на конкретный продукт. Из пробы отбирают около 250 г продукта, растирают в ступке и просеивают через сито с квадратными отверстиями размером 0,2 мм (или 0,3 мм на ситах с круглыми отверстиями). Допускается применение сит с квадратными отверстиями размером 0,25 мм. При анализе простого суперфосфата применяют сито с квадратными (или круглыми) отверстиями размером 0,5 мм. Комочки, не проходящие через сито, растирают до полного просева. Для гигроскопичных удобрений метод подготовки проб для анализа устанавливается в стандартах на конкретный продукт. Просеянную пробу помещают на стекло, тщательно перемешивают и методом квартования уменьшают до массы около 100 г.

35. Методы извлечения фосфора из удобрений

Форма фосфора	Метод извлечения	Номер раздела, содержащего метод извлечения	
		настоящего стандарта	СТ СЭВ 1426
Общий фосфор	Раствором соляной (азотной) кислоты	1	-
	Смесью соляной и азотной кислот	16	3
Усвояемый фосфор	Реактивом Петермана	2	4
	Раствором лимонной кислоты	3	7
	Раствором трилона Б (ди-Na-ЭДТА)	5	-
	Раствором соляной кислоты	5а	5
	Раствором лимоннокислого аммония с pH 7	5б	6
	Раствором муравьиной кислоты	5в	8
Водорастворимый фосфор и свободная кислота	Водой	6	9

36. Методы анализа, применяемые для определения фосфора

Метод анализа	Пределы массовых долей фосфора,%	Номер раздела, содержащего метод анализа	
		настоящего стандарта	СТ СЭВ 1426
Весовой магнезиальный	От 3 до 55	7	14
Дифференциальный фотометрический		8	12
Объемный (определение свободной кислотности)	От 0,2 до 8,0	10	-
Весовой хинолиномолибденовый		11	10
Титриметрический хинолино-молибденовый	От 3 до 55	12	11
Титрования с применением хлористого магниям		13	13

Примечание. Для определения массовой доли усвояемого фосфора, извлекаемого реактивом Петермана, раствором лимоннокислого аммония с pH 7 и раствором лимонной кислоты, метод титрования с применением хлористого магния не используется.

Извлечение общего фосфора смесью соляной и азотной кислот

Метод основан на растворении пробы в смеси азотной и соляной кислот при температуре кипения.

Ход анализа

2 г подготовленной (как описано на с. 504) пробы, взвешивают с погрешностью не более 0,0002 г, переносят в стакан вместимостью 250 $см^3$ и добавляют 15 $см^3$ раствора азотной кислоты и 5 $см^3$ раствора соляной кислоты. Содержимое стакана нагревают до кипения и кипятят под часовым стеклом до полного растворения пробы, затем доливают до объема 50 $см^3$ водой и кипятят в течение 5 мин. Раствор количественно переносят в мерную колбу вместимостью 250 $см^3$, охлаждают, доливают водой до отметки, тщательно перемешивают и фильтруют через сухой фильтр в сухую посуду, отбрасывают первую порцию фильтрата.

Реактивы и растворы

1. Кислота азотная по ГОСТу 4461, плотностью 1,4 $г/см^3$.
2. Кислота соляная по ГОСТу 3118, плотностью 1,19 $г/см^3$.

Извлечение общего фосфора из удобрений раствором соляной (азотной) кислоты

Ход анализа

1,0 г удобрения, взвешенного с погрешностью не более 0,0002 г, переносят в стакан или коническую колбу вместимостью 250 – 300 $см^3$, смачивают 5 – 10 $см^3$ воды и добавляют 50 $см^3$ кислоты. Стакан накрывают часовым стеклом и нагревают сначала медленно, а затем доводят до кипения и медленно кипятят 30 мин, время от времени перемешивая стеклянной палочкой.

После кипячения раствор разбавляют водой вдвое и переносят вместе с осадком в мерную колбу вместимостью 250 $см^3$, тщательно обмывая стенки водой. После охлаждения до комнатной температуры объем раствора доводят водой до метки, перемешивают и фильтруют, отбрасывая первые порции фильтрата. Полученный раствор используют для определения общего фосфора.

Реактивы и растворы

1. Кислота соляная по ГОСТу 3118,
2. 20%-й раствор или кислота азотная по ГОСТу 4461, разбавленная 1 : 2.

Извлечение усвояемого фосфора реактивом Петермана

Сущность метода. Метод основан на двухступенчатой экстракции фосфатов водой и реактивом Петермана с последующей фильтрацией нерастворимых веществ.

Ход анализа

2 г подготовленной (как описано на с. 504) пробы взвешивают с погрешностью не более 0,0002 г, помещают в колбу Штохмана (мерную колбу) вместимостью 250 $см^3$, добавляют 100 $см^3$ воды и сразу же перемешивают, чтобы избежать образования комков. Колбу закрывают пробкой, помещают в ротационный аппарат и перемешивают в течение 1 ч. Раствор фильтруют через плотный фильтр в мерную колбу вместимостью 500 $см^3$, промывая колбу водой. Фильтр с осадком переносят в коническую колбу вместимостью 250 $см^3$, добавляют 100 $см^3$ реактива Петермана и нагревают на водяной бане в сушильном шкафу или ультратермостате при температуре 65±2°С в течение 1 ч при постоянном перемешивании.

После охлаждения содержимое конической колбы количественно переносят в мерную колбу вместимостью 500 $см^3$, содержащую фильтрат после водной экстракции. Собранные в колбе растворы доливают водой до метки, перемешивают и сразу же фильтруют через сухой фильтр в сухую посуду, отбрасывая первые 30 – 50 $см^3$ фильтрата.

Примечания

1. При отсутствии ротационного аппарата допускается применять магнитную мешалку. При этом взвешенную пробу помещают в стакан вместимостью 400 $см^3$ к добавляют 100 $см^3$ воды. Стакан накрывают часовым стеклом и перемешивают раствор на магнитной мешалке в течение 1 ч. Раствор фильтруют через плотный фильтр «синяя лента» в мерную колбу вместимостью 500 $см^3$, смывая стенки стакана водой. Далее анализ проводят, как указано выше.

2. *Для суперфосфатов допускается проводить извлечение следующим образом:* 2,0 – 2,5 г удобрения, взвешенного с погрешностью не более 0,0002 г помещают в фарфоровую ступку диаметром 6 – 10 см, растирают пестиком, обливают 25 $см^3$ воды и продолжают растирать. Затем дают жидкости отстояться и, не перенося остатка, сливают ее на фильтр, собирая фильтр в мерную колбу вместимостью 250 $см^3$, в которую предварительно наливают 10 $см^3$ соляной кислоты. Остаток обрабатывают водой еще три раза, прибавляя по 20 – 25 $см^3$ воды, и каждый раз растирают его в ступке. Затем остаток переносят на фильтр и промывают водой до тех пор, пока объем фильтрата в колбе не будет составлять 200 – 230 $см^3$. Раствор разбавляют водой до метки и перемешивают (раствор А). Фильтр с остатком переносят в другую мерную колбу вместимостью 250 $см^3$, приливают 100 $см^3$ раствора Петермана, встряхивают до разрушения фильтра на волокна и погружают в водяной термостат, отрегулированный на температуру 60±1°С. Через 15 мин после погружения в термостат содержимое колбы встряхивают и оставляют в термостате еще на 15 мин, после этого колбу вынимают из термостата и охлаждают до комнатной температуры.

Раствор разбавляют водой до метки, тщательно перемешивают и фильтруют через сухой фильтр, отбрасывая первые порции фильтрата (раствор Б).

При определении содержания усвояемого фосфора растворы А и Б отбирают в равных количествах. Для определения водорастворимого фосфора используют только раствор А.

Аппаратура, реактивы и растворы

1. Аппарат ротационный, скорость вращения 45 об/мин или магнитная мешалка.
2. Колба Штохмана или мерная колба вместимостью 250 см^3.
3. Колба мерная вместимостью 250, 500 см^3.
4. Бутыль вместимостью 10 дм^3.
5. Стакан вместимостью 400 см^3.
6. Колба коническая вместимостью 250 см^3.
7. Баня водяная или шкаф сушильный, или ультратермостат.
8. Аммиак водный по ГОСТу 3760, 25%-й раствор.
9. Кислота серная по ГОСТу 4204, 0,1 н. раствор.
10. Натрия гидроокись по ГОСТу 4328, 0,1 н. раствор.
11. Метиловый оранжевый (индикатор) по ГОСТу 10816.
12. Кислота соляная по ГОСТу 3118, 20%-й раствор.
13. Реактив Петермана – цитрат аммония, содержащий 42 г аммиачного азота и 173 г лимонной кислоты кристаллической (ГОСТ 3652) в 1 л раствора, готовят следующим образом: готовят примерно 12%-й раствор аммиака. Для определения в нем содержания азота отбирают 10 см^3 раствора аммиака в мерную колбу вместимостью 500 см^3, доливают водой до отметки и перемешивают. Из колбы отбирают 25 см^3 раствора аммиака, переносят в коническую колбу и титруют раствором серной кислоты в присутствие метилового оранжевого до появления розовой окраски.

Объем аммиака (X), необходимый для приготовления 10 л реактива Петермана, в миллилитрах вычисляют по формуле

$$X = \frac{42 \cdot 10 \cdot 25 \cdot 10}{V \cdot 0{,}0014\ 500} = 150000/V,$$

где V – объем точно 0,1 н. Раствора серной кислоты, израсходованный на титрование, см^3; *42* – масса аммиачного азота в 1 дм^3 реактива Петермана, г; *0,0014* – масса аммиачного азота, соответствующая 1 см^3 точно 0,1 н. раствора серной кислоты, г.

Затем предварительно готовят раствор лимонной кислоты следующим образом: 2 г лимонной кислоты растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 250 см^3, затем отбирают 25 см^3 раствора лимонной кислоты в коническую колбу вместимостью 250 см^3 и титруют раствором гидроокиси натрия в присутствии метилового оранжевого до появления розовой окраски. Температура раствора при титровании должна быть от 60 до 70°С.

Количество лимонной кислоты, необходимое для приготовления 10 л реактива Петермана, в граммах (X_1) вычисляют по формуле

$$X_1 = \frac{158{,}17 \cdot 10 \cdot 25 \cdot m}{V_1 \cdot 0{,}0064 \cdot 250} = \frac{158{,}17 \cdot m}{0{,}0064 \cdot V_1},$$

где m – масса навески лимонной кислоты, г; V_1 – объем точно 0,1 н. раствора гидроокиси натрия, израсходованного на титрование, см^3; *158,17* – масса безводной лимонной кислоты, содержащаяся в 173 г кристаллической кислоты, г;

0,0064 – масса безводной лимонной кислоты, соответствующая 1 мл точно 0,1 н. раствора гидроокиси натрия, г.

Вычисленный объем раствора аммиака наливают в бутыль вместимостью 10 л. Вычисленное количество лимонной кислоты разбавляют примерно 3 л воды, затем медленно через воронку вливают в раствор аммиака, перемешивая. Бутыль с раствором все время охлаждают. Воронку промывают водой, собирая промывную воду в бутыль. Раствор доливают водой до 10 л, перемешивают, фильтруют и оставляют на 2 сут. Плотность полученного раствора должна быть 1,082 –1,083 г/см^3.

Примечание. В зависимости от количества анализируемых проб допускается объем приготовленного раствора увеличивать или уменьшать, соответственно пропорционально увеличив или уменьшив объем используемых реактивов.

Извлечение усвояемого фосфора лимонной кислотой

Сущность метода. Метод основан на извлечении фосфатов раствором лимонной кислоты.

Ход анализа

2 г пробы взвешивают с погрешностью не более 0,0002 г, переносят в колбу Штохмана (или мерную колбу) вместимостью 250 см^3. Пробу заливают 200 см^3 раствора лимонной кислоты и сразу же перемешивают, чтобы избежать образования комков. Колбу закрывают пробкой, устанавливают на ротационный аппарат и перемешивают в течение 30 мин.

По истечении этого времени доливают содержимое колбы раствором лимонной кислоты до отметки, перемешивают и фильтруют через сухой фильтр в сухую посуду, отбрасывая первые 30 – 50 см^3 фильтрата.

Примечание. При отсутствии ротационного аппарата применяют магнитную мешалку. Пробу помещают в стакан вместимостью 400 см^3, добавляют 200 см^3 раствора лимонной кислоты, накрывают стакан часовым стеклом и перемешивают на магнитной мешалке в течение 30 мин. Затем раствор количественно переносят в мерную колбу вместимостью 250 см^3 и доливают раствор лимонной кислотой до отметки, перемешивают и фильтруют через сухой фильтр в сухую посуду, отбрасывая первые 30-50 см^3 фильтрата.

Аппаратура, реактивы и растворы

1. Аппарат ротационный, скорость вращения 45 об./мин. или магнитная мешалка.
2. Колба Штохмана или мерная колба вместимостью 250 см^3.
3. Колба мерная вместимостью 250, 500 см^3.
4. Стакан вместимостью 400 см^3.
5. Кислота лимонная по ГОСТу 3652, 2%-й раствор.

Извлечение усвояемого фосфора раствором трилона Б

Ход анализа

1 г пробы (подготовленной, как описано на с. 504) взвешивают с погрешностью не более 0,0002 г, помещают в коническую или мерную колбу, добавляют раствор трилона Б и экстрагируют усвояемые фосфаты

при соблюдении требований, указанных в табл. 37, при перемешивании на магнитной мешалке или механическом встряхивателе.

37. Требования к анализу при извлечении из удобрений усвояемого фосфора раствором трилона Б

Наименование удобрения	Разбавление, г/см^3	Общий объем и концентрация трилона Б	Условие анализа
Удобрения типа РК, NPK, NP	1/250	100 см^3 0,01 М	Встряхивают 15 мин.
Аммофос и диаммофос из фосфоритового сырья	1/500	150 см^3 0,2 М	Выдерживают на водяной бане при 90+2°С 15 мин
Аммофос и диаммофос из апатитового концентрата	1/500 или 1/250	100 см^3 0,1 М	Встряхивают 15 мин
Простой суперфосфат	1/500	200 см^3 0,2 М	Встряхивают 15 мин с раствором трилона Б, предварительно нагретого до 90-95°С
Двойной суперфосфат	1/500	200 см^3 0,2 М	Встряхивают 15 мин с раствором трилона Б, предварительно нагретого до 90-95°С

После охлаждения содержимое конической колбы количественно переносят в мерную колбу. Объем раствора доводят водой до метки, перемешивают, фильтруют, отбрасывая первые порции фильтрата. Фильтрат используют для определения усвояемого фосфора.

Аппаратура, растворы и реактивы

1. Магнитная мешалка или механический встряхиватель типа АВУ-1 с частотой встряхивания 140 -150 колебаний в минуту или другой аналогичный прибор.
2. Соль динатриевая этилендиамин-N,N,N',N'-тетрауксусной кислоты, двухводная (трилон Б) по ГОСТу 10652, 0,01; 0,1и 0,2 М растворы.

Извлечение усвояемого фосфора раствором соляной кислоты

Метод основан на извлечении фосфатов 1 н. раствором соляной кислоты.

Ход анализа

2 г пробы (подготовленной, как описано на с. 504) взвешивают с погрешностью не более 0,0002 г и переносят в колбу Штохмана (или мерную колбу) вместимостью 250 см^3.

Пробу доливают 100 см^3 раствора соляной кислоты и сразу же перемешивают, чтобы избежать образования комков, затем колбу закрывают пробкой, помещают в ротационный аппарат и перемешивают в течение 30 мин. По истечении указанного времени содержимое колбы доливают водой до отметки, перемешивают и сразу же фильтруют через

сухой плотный фильтр в сухую посуду, отбрасывая первые 30 – 50 $см^3$ фильтрата.

Примечание. При отсутствии ротационного аппарата допускается применять магнитную мешалку. Пробу помещают в стакан вместимостью 400 $см^3$, добавляют 100 $см^3$, раствора соляной кислоты, покрывают стеклом и перемешивают на магнитной мешалке в течение 30 мин. Затем переносят раствор в мерную колбу вместимостью 250 $см^3$, доливают водой до отметки, перемешивают и сразу же фильтруют через сухой плотный фильтр в сухую посуду, отбрасывая первые 30 – 50 $см^3$ фильтрата.

Аппаратура, растворы и реактивы

1. Аппарат ротационный, скорость вращения 45 об./мин или магнитная мешалка.
2. Колба Штохмана или мерная колба вместимостью 250 $см^3$.
3. Колба мерная вместимостью 250, 500 $см^3$
4. Стакан вместимостью 400 $см^3$.
5. Кислота соляная (ГОСТ 3118), 1 н. раствор.

Извлечение усвояемого фосфора раствором лимоннокислого аммония с pH 7

Метод основан на извлечении фосфатов раствором лимоннокислого аммония с pH 7.

Ход анализа

2 г пробы (подготовленной, как описано на с. 504), взвешивают с погрешностью не более 0,0002 г, растирают пестиком в ступке с 10 $см^3$ раствора лимоннокислого аммония, переливают в склянку тем же раствором. Для растирания и перелива пробы должно быть израсходовано 100 $см^3$ раствора лимоннокислого аммония.

Закрывают склянку с раствором, взбалтывают в течение 3 ч в ротационном аппарате со скоростью 45 об./мин, а затем дают отстояться на водяной бане с температурой около 65±2°С в течение 1 ч. После охлаждения содержимое колбы доливают водой до 250 $см^3$, перемешивают и фильтруют через сухую фильтровальную бумагу в сухой стакан, отбрасывая первые 30 – 50 $см^3$ фильтрата. Фильтрат должен быть прозрачным.

Аппаратура, реактивы и растворы

1. Аппарат ротационный, скорость вращения 45 об./мин или магнитиая мешалка.
2. pH-метр.
3. Ступка и пестик.
4. Баня водяная.
5. Термостат.
6. Колбы мерные вместимостью 100 и 250 $см^3$.
7. Склянки вместимостью 10 $дм^3$.
8. Капельная воронка вместимостью 2 $дм^3$.
9. Бюретка вместимостью 10 $см^3$.
10. Бумага фильтровальная.
11. Аммиак водный по ГОСТу 3760, 25%-й и 2 н., растворы.

12. Бумага лакмусовая.
13. Феноловый красный (индикатор) по ГОСТу 4599.
14. Кислота лимонная моногидрат по ГОСТу 3652, 10%-й и 50%-й растворы.
15. Раствор аммония лимоннокислого с pH 7,0, содержащий 1850 г лимонной кислоты и 450 г аммиака в 10 л; готовят следующим образом: в склянку вместимостью 10 л наливают от 2 до 3 $дм^3$ воды и раствор аммиака в объеме, определенном титрованием. Затем, охлаждая, приливают 50%-й раствор лимонной кислоты в объеме, соответствующем 1850 г лимонной кислоты, через цилиндрическую капельную воронку, герметично соединенную со склянкой. После охлаждения нейтрализуют раствором аммиака или раствором лимонной кислоты по лакмусовой бумаге, объем раствора доливают водой с температурой около 20°С до отметки и на pH-метре устанавливают pH 7 ± 0,1. Плотность раствора должна составлять 1,09 $г/см^3$. Установление pH колориметрическим методом в присутствии фенолового красного 10 $см^3$ раствора лимоннокислого аммония переводят в пробирку и прибавляют 2 капли фенолового красного. Окраску полученного раствора визуально сравнивают с окраской раствора сравнения с pH 6,0, содержащего тот же объем индикатора. К раствору лимоннокислого аммония из бюретки прибавляют по каплям раствор аммиака или раствор лимонной кислоты до получения одинаковой окраски в обоих растворах. Объем раствора, необходимый для нейтрализации всего раствора, вычисляют из израсходованного объема раствора аммиака или раствора лимонной кислоты.
Примечание. В зависимости от количества анализируемых проб допускается объем приготовляемого раствора увеличивать или уменьшать, соответственно пропорционально увеличив или уменьшив количества анализируемых реактивов.

Извлечение усвояемого фосфора муравьиной кислотой

Метод основан на извлечении усвояемых фосфатов раствором муравьиной кислоты.

Ход анализа

0,8 г пробы (подготовленной как описано на с. 504) взвешивают с погрешностью не более 0,0002 г, переносят в колбу Штохмана или мерную колбу вместимостью 250 $см^3$, доливают раствором муравьиной кислоты до отметки, помещают на ротационный аппарат и перемешивают в течение 60 мни. После этого немедленно фильтруют через сухой фильтр в сухую посуду.

Аппаратура, реактивы и растворы

1. Аппарат ротационный скорость вращения 45 об./мин или магнитная мешалка.
2. Колба Штохмана или мерная колба вместимостью 250 $см^3$.
3. Кислота муравьиная по ГОСТу 5848, 2%-й раствор.

Примечание. При отсутствии ротационного аппарата допускается применять магнитную мешалку. Пробу помещают в стакан вместимостью 400 $см^3$, добавляют 250 $см^3$ раствора муравьиной кислоты, перемешивают на магнитной мешалке в течение 60 мин. После этого раствор сразу фильтруют через сухой фильтр в сухую посуду.

Извлечение водорастворимого фосфора и свободной кислоты водой

Метод основан на растворении пробы анализируемого удобрения в воде.

Ход анализа

2 г пробы (4 – 5 г пробы при определении водорастворимого фосфора и свободной кислоты), подготовленной как описано на с. 504, взвешивают с погрешностью не более 0,0002 г, и переносят в колбу Штохмана (или мерную колбу) вместимостью 250 $см^3$ (допускается применять мерную колбу вместимостью 500 $см^3$). Пробу заливают 200 $см^3$ (400 $см^3$ соответственно взятой навески пробы 4 – 5 г) воды и сразу же перемешивают, чтобы избежать образования комков. Колбу закрывают пробкой, устанавливают на ротационный аппарат и перемешивают в течение 30 мин. По истечении этого времени содержимое колбы доводят водой до отметки и тщательно встряхивают в течение нескольких минут. Затем раствор сразу же после осаждения осадка фильтруют через сухой фильтр в сухую посуду.

Примечание. При отсутствии ротационного аппарата применяют магнитную мешалку или другой аппарат для перемешивания. Пробу помещают в стакан вместимостью 400 $см^3$, добавляют 200 (400) $см^3$ воды, накрывают часовым стеклом и перемешивают на магнитной мешалке в течение 30 мин. Затем раствор количественно переносят в мерную колбу вместимостью 250 (500) $см^3$, доливают водой до отметки и тщательно встряхивают в течение нескольких минут. Затем раствор сразу же после осаждения осадка фильтруют через сухой фильтр в сухую посуду.

Аппаратура

Аппарат ротационный со скоростью вращения 45 об./мин или магнитная мешалка или другой аппарат для перемешивания.

Определение содержания фосфора весовым магнезиальным методом

Метод основан на осаждении фосфат-иона магнезиальной смесью в виде магний-аммоний фосфата, озолении осадка при температуре от 700 до 800°С с переходом в пирофосфат магния , прокаливании пирофосфата магния при температуре от 1000 до 1050°С и взвешивании.

Ход анализа

В стакан вместимостью 400 $см^3$ отбирают такой объем анализируемого раствора (приготовление которого см. с. 506 – 512), чтобы он содержал от 60 до 100 мг P_2O_5. К растворам, приготовленным с использованием реактива Петермана (с. 506 – 507), лимонной кислоты (с. 509) или воды (с. 512), добавляют 20 $см^3$ соляной кислоты и кипятят в течение 15 – 20 мин, добавляют 10 $см^3$ раствора лимоннокислого аммония и нейтрализуют 10%-м раствором аммиака в присутствии фенолфталеина. Затем медленно доливают, перемешивают в течение 30 мин, а затем

оставляют раствор до полного осаждения осадка. Раствор с осадком фильтруют через плотный фильтр «синяя лента». Осадок количественно переносят на фильтр, добавляя каждый раз в стакан 8 – 10 $см^3$, 2,5%-го раствора аммиака и тщательно смывая со стенок и дна кристаллы осадка. Осадок на фильтре промывают 3 – 4 раза 2,5%-м раствором аммиака. Общее количество промывных вод должно составлять от 100 до 125 $см^3$.

Фильтр с осадком переносят в тигель, прокаленный до постоянной массы при 700 – 800°С, а затем прокаливают при температуре 1000 – 1050°С до постоянной массы.

Одновременно проводят контрольный опыт в тех же условиях и с тем же количеством реактивов, но без анализируемого продукта.

Массовую долю фосфора (X_1) в пересчете на P_2O_5 в процентах вычисляют по формуле

$$X_1 = \frac{m_1 \cdot 0{,}638 \cdot V_2 \cdot 100}{m \cdot V_3} = \frac{m_1 \cdot 63{,}800 \cdot V_2}{m \cdot V_3},$$

где m – масса навески анализируемой пробы, г; m_1 – масса прокаленного осадка за вычетом массы осадка по контрольному опыту, г; V_2 – объем мерной колбы, применяемой при извлечении фосфора, $см^3$; V_3 – объем анализируемого раствора, отобранный для анализа, $см^3$; *0,638* – коэффициент перерасчета пирофосфата магния на пятиокись фосфора ($Mg_2P_2O_7$ на P_2O_5).

За результаты анализа принимают среднее арифметическое двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми при доверительной вероятности P = 0,95 не должны превышать:
при массовой доле от 3 до 10 % P_2O_5 – 0,2%;
при массовой доле свыше 10 до 40% P_2O_5 – 0,3%;
при массовой доле свыше 40 до 55% P_2O_5 – 0,4%.

Реактивы и растворы.

1. Аммиак водный по ГОСТу 3760. 2,5; 10 и 25%-е растворы.

2. Раствор аммония лимоннокислого (ГОСТ 9264), 50%-й, готовят следующим образом: 500 г лимонной кислоты растворяют в 600 $см^3$ 25%-го раствора аммиака (раствор должен быть нейтральным по метиловому оранжевому) в мерной колбе вместимостью 1 $дм^3$, доливают водой до отметки, перемешивают и фильтруют.

3. Фенолфталеин (индикатор) (ГОСТ 5850), 1%-й раствор.

4. Смесь магнезиальная. Готовят следующим способом: 70 г хлористого аммония (ГОСТ 3773) и 55 г хлористого магния (ГОСТ 4209) растворяют в 650 $см^3$ воды в мерной колбе вместимостью 1 $дм^3$, доливают до отметки 25%-ным раствором аммиака плотностью 0,91 $г/см^3$, перемешивают и на следующие сутки фильтруют.

5. Кислота соляная по ГОСТу 3118, разбавленная 1:1.

Определение содержания фосфора дифференциальным фотометрическим методом

Метод основан на образовании фосфорнованадиевомолибденового комплекса, окрашенного в желтый цвет, и фотометрическом измерении оптической плотности этого комплекса при длине волны от 430 до 450 нм относительно раствора сравнения, содержащего известное количество P_2O_5.

Ход анализа

25 $см^3$ анализируемого раствора, полученного одним из описанных ранее способов (с. 506 – 513), отбирают пипеткой в стакан вместимостью 200 – 400 $см^3$, добавляют 20 $см^3$ соляной кислоты, кипятят 15 – 20 мин, переносят количественно в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$, доливают водой до отметки при температуре около 20°С и перемешивают.

При анализе раствора, приготовленного с использованием соляной или азотной кислот (с. 506 – 507) и при определении *орто*-формы P_2O_5, операции добавления соляной кислоты и кипячения исключаются.

В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ вносят такой объем анализируемого раствора, который содержит P_2O_5 в пределах построенной градуировочной кривой и далее анализируют следующим образом: отбирают анализируемый раствор в объемах, указанных в ниже в таблице, и помещают в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$, добавляют 2 $см^3$ соляной кислоты и 5 – 10 $см^3$ воды, кипятят 10 мин., охлаждают, разбавляют водой примерно до 20 $см^3$.

Разбавление, $г/см^3$	Объем анализируемого раствора в миллилитрах при массовой доле P_2O_5,%			
	До 5	5 – 10	10 – 25	25 – 55
1/250	20	10	5	2
2/250	10	5	2	1
1/500	-	-	10	5
2/500	20	10	5	2
4 – 5 /500	10	5	2	1

Затем прибавляют 25 $см^3$ реактива на фосфаты, доливают водой до метки, перемешивают и далее анализируют.

При анализе раствора, приготовленного с использованием соляной или азотной кислоты (с. 506 – 507), и определении *орто*-формы P_2O_5, операции добавления соляной кислоты и кипячения исключаются.

При применении расчетного метода замеряют оптические плотности (D и D_1 соответственно) анализируемого и рабочего растворов относительно раствора сравнения с наименьшей концентрацией P_2O_5 или 1 мг P_2O_5 в 100 $см^3$.

Массовую долю фосфора в пересчете на P_2O_5 (X_2) в процентах вычисляют по формуле:

$$X_2 = \frac{m_1 \cdot V_2 \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot 25 \cdot V_4 \cdot 1000} = \frac{m_1 \cdot V_2 \cdot 0{,}4}{m \cdot V_4},$$

где m_1 – масса фосфора (P_2O_5) в анализируемой пробе, определенная по градуировочному графику или формуле ,мг

$$m_1 = \frac{D}{D_1}(m_2 - m_3) + m_3,$$

где m – масса навески анализируемой пробы, мг; V_2 – объем мерной колбы, применяемый при извлечении, $см^3$; V_4 – объем анализируемого раствора, $см^3$; V_4 – объем анализируемого раствора, отобранный по таблице, $см^3$; m_3 – масса P_2O_5 в растворе сравнения, мг; m_2 – масса P_2O_5 в рабочем растворе, мг.

За результат анализа принимают среднее арифметическое двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми при доверительной вероятности $P = 0{,}95$ не должны превышать:
при массовой доле от 3 до 10% P_2O_5 – 0,2%;
при массовой доле свыше 10 до 50% P_2O_5 – 0,4%;
при массовой доле свыше 50% P_2O_5 – 0,5%.

Построение градуировочного графика.

Для построения градуировочного графика в пять мерных колб вместимостью 100 $см^3$ вводят поочередно отмеренные объемы рабочих растворов (в соответствии с приведенной далее таблицей) в зависимости от концентраций P_2O_5 в анализируемом растворе так, чтобы эта концентрация находилась в пределах между наименьшей и наибольшей концентрациями P_2O_5 в рабочих растворах. Рабочий раствор, содержащий 1 мг P_2O_5 в 1 $см^3$ вводят с помощью микробюретки.

Раствор сравнения	Объем рабочего раствора, $см^3$, содержащего		Концентрация P_2O_5 (в мерной колбе вместимостью 100 $см^3$), мг	Массовая доля P_2O_5 в анализируемом растворе при массе навески пробы, %	
	0,2 мг P_2O_5 в 1 $см^3$	1 мг P_2O_5 в 1 $см^3$		0,02 г (в мерной колбе вместимостью 100 $см^3$)	0,01 г (в мерной колбе вместимостью 100 $см^3$)
1	5,0	1,0	1,0	5,0	10
2	7,5	1,5	1,5	7,5	15
3	10,0	2,0	2,0	10,0	20
4	12,5	2,5	2,5	12,5	25
5	15,0	3,0	3,0	15,0	30
6	17,5	3,5	3,5	17,5	35
7	20,0	4,0	4,0	20,0	40
8	22,5	4,5	4,5	22,5	45
9	25,0	5,0	5,0	25,0	50
10	27,5	5,5	5,5	27,5	55

Затем приливают воду до объема 25 $см^3$. После этого приливают 40 $см^3$ раствора Г (допускается 25 $см^3$ раствора Г). Растворы доливают водой до отметки при температуре около 20°С (допускается при комнатной температуре) и перемешивают. Готовят две параллельные серии рабочих растворов (1 и 2 из одного из указанных исходных рабочих растворов (0,2 мг P_2O_5 в 1 $см^3$ или 1 мг P_2O_5 в 1 $см^3$).

Через 15 мин (но не более чем через 60 мин) измеряют оптическую плотность окрашенных рабочих растворов относительно раствора сравнения с наименьшей концентрацией P_2O_5. Допускается изменение пластической плотности окрашенных рабочих растворов относительно 1 мг P_2O_5 в 100 $см^3$.

Рабочие растворы готовят одновременно с приготовлением анализируемого раствора, причем оптическую плотность рабочих растворов 1 серии измеряют в начале анализа, а растворов 2 серии – в конце анализа, определяют среднее арифметическое значение и строят градуировочный график, откладывая на оси абсцисс концентрацию P_2O_5 в 100 $см^3$ раствора в миллиграммах, а на оси ординат соответствующие им величины оптической плотности.

Аппаратура, реактивы и растворы

1. Спектрофотометр с монохроматором или фильтром с фотоэлектрическим элементом с кюветами с толщиной поглощающего свет слоя раствора не менее 10 мм.
2. Фотоэлектроколориметры типа ФЭК-56 М (светофильтр № 4), ФЭК-Н-57 и ФЭК-60 (светофильтры №3) или другой аналогичный прибор с соответствующим светофильтром.
3. Микробюретка (ГОСТ 1770), вместимостью 5 или 10 $см^3$.
4. Бюретка вместимостью 25 $см^3$.
5. Кислота азотная (ГОСТ 4461), плотностью 1,4 г/$см^3$ и разбавленная 1:2.
6. Кислота серная (ГОСТ 4204).
7. Кислота соляная (ГОСТ 3118), 20%-й раствор.
8. Раствор, содержащий 4 мг P_2O_5 в 1 $см^3$, готовят следующим образом: 7,6696 г однозамещенного фосфорнокислого калия (ГОСТ 4198) растворяют в воде с 5 $см^3$ 65%-го раствора азотной кислоты, полученный раствор переносят в мерную колбу вместимостью 1 л и доливают водой с температурой 20°С до отметки.
9. Калий фосфорнокислый однозамещенный перед взвешиванием высушивают при температуре около 105°С в течение 2 ч. При необходимости титр полученного раствора устанавливают весовым методом.
10. Калий фосфорнокислый однозамещенный; рабочий раствор, содержащий 0,2 мг P_2O_5 в 1 $см^3$, готовят следующим образом: 50 $см^3$ раствора однозамещенного фосфорнокислого калия, содержащего 4 мг P_2O_5 в 1 $см^3$, отбирают пипеткой в мерную колбу (1 $дм^3$) и доливают водой до отметки при температуре около 20°С. Раствор устойчив не более недели.

Допускается в качестве рабочего раствора применять раствор KH_2PO_4 с концентрацией P_2O_5 1 мг в 1 $см^3$; приготовленный следующим образом: 4 – 5 г однозамещенного фосфорнокислого калия помещают в бюкс диаметром от 32 до 58 мм и высотой 30 ± 2 мм и высушивают в сушильном шкафу при температуре 108 ± 4°С в течение 2 ч, а затем охлаждают в эксикаторе в течение 40 – 60 мин. 1,9175 г однозамещенного фосфорнокислого калия взвешивают с погрешностью не более 0,0002 г, растворяют в мерной колбе на 1 л, прибавляют 10 $см^3$ концентрированной серной кислоты, доводят объем раствора водой до метки и тщательно перемешивают.

11. Смесь ванадиевомолибденовая, готовят следующим образом: раствор А – аммоний ванадиевокислый мета (ГОСТ 9336), 0,25%-й раствор, готовят следующим образом: 2,5 г аммония ванадиевокислого мета растворяют в 500 $см^3$ горячей воды с температурой 60 – 90°С, добавляют 20 $см^3$ азотной кислоты плотностью 1,4 $г/см^3$, охлаждают, переносят в мерную колбу вместимостью 1 $дм^3$, доливают водой до отметки и, если необходимо, фильтруют.
Раствор Б – аммоний молибденовокислый (ГОСТ 3765), 5%-й раствор, готовят следующим образом: 50 г молибденовокислого аммония растворяют в 500 $см^3$ воды при температуре 50°С , переносят в мерную колбу вместимостью 1 $дм^3$, охлаждают и доливают водой до отметки ; если раствор мутный, его фильтруют.
Раствор В – азотная кислота (ГОСТ 4461), раствор разбавленный 1:2 .
Раствор Г – готовят следующим образом: смешивают равные объемы растворов А, Б и В в указанной последовательности и фильтруют. Раствор хранят в бутыли из темного стекла в холодном месте (Допускается при комнатной температуре).

Метод определения свободной кислотности (объемный)

Ход анализа

25 – 50 мм фильтрата водной вытяжки (см. с. 512), переносят в коническую колбу, разбавляют водой до 100 $см^3$ и титруют раствором гидроокиси натрия в присутствии 3 – 5 капель диметилового желтого до перехода окраски в оранжевую или в присутствии 0,5 $см^3$ бромкрезолового до окраски буферного раствора.
Титрование можно проводить на pH-метре до значения pH 4.0.

Массовую долю свободной кислоты в пересчете на P_2O_5 (X_3) в процентах вычисляют по формуле

$$X_3 = \frac{V_6 \cdot 0{,}0071 \cdot V_2 \cdot 100}{m \cdot V_5},$$

где V_6 – объем точно 0,1 н. раствора гидроокиси натрия, израсходованный на титрование, $см^3$, V_2 – общий объем раствора, полученный как описано на стр 513, $см^3$, V_5 – объем анализируемого раствора, $см^3$; m – масса навески удобрения, г; $0{,}0071$ – масса P_2O_5, соответствующая 1 $см^3$ точно 0,1 н. раствора гидроокиси натрия, г.

За результат анализа принимают среднее арифметическое двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми при доверительной вероятности $P = 0{,}95$ не должны превышать:

- при массовой доле от 0,2 до 0,8% P_2O_5 – 0,05%;
- при массовой доле свыше 0,8 до 2,0% P_2O_5 – 0, 08%;
- при массовой доле свыше 2,0 до 8,0% P_2O_5 – 0,1%.

Приборы, реактивы и растворы

1. pH-метр со стеклянным электродом.
2. Микробюретка по ГОСТу 20292, вместимостью 2 или 5 $см^3$.
3. Натрий гидроокись по ГОСТу 4328, 0,1 н. Раствор.
4. Натрий фосфорнокислый двузамещенный по ГОСТу 4172, 0,2 М раствор.
5. Кислота лимонная по ГОСТу 3652, 0,1 М раствор.
6. Спирт этиловый синтетический ректификованный по ГОСТу 11547.

7. Диметиловый желтый (индикатор), 0,1%-й спиртовой раствор или бромкрезоловый зеленый (индикатор), готовят следующим образом: 0,2 г индикатора растворяют в смеси, состоящей из 6 $см^3$ раствора едкого натра и 5 $см^3$спирта, разбавляют водой до 100 $см^3$;
8. Буферный раствор pH 4,0; готовят следующим образом: в коническую колбу вместимостью 250 $см^3$ наливают из бюретки 7,7 $см^3$ двузамещенного фосфорнокислого натрия; 12,3 $см^3$ раствора лимонной кислоты, 100 $см^3$ воды и 0,5 $см^3$ индикатора бромкрезолового зеленого, pH проверяют на pH-метре. Смесь стерилизуют нагреванием при 60-70°С, перемешивают, колбу плотно закрывают и хранят в темном месте.

Определение содержания фосфора весовым хинолиномолибденовым методом

Метод основан на осаждении фосфатов в виде фосформолибдената хинолина в водно-ацетоновом растворе, фильтровании, высушивании при 250°С и взвешивании осадка.

Ход анализа

В стакан вместимостью 400 $см^3$ отбирают пипеткой такой объем анализируемого раствора, приготовленного одним из методов, перечисленных на с. 506 – 513, чтобы он содержал от 10 до 20 мг P_2O_5. К раствору доливают 5 $см^3$ азотной кислоты (при извлечении фосфора реактивом Петермана доливают 10 $см^3$ азотной кислоты) и разбавляют водой до объема около 100 $см^3$. Затем доливают 50 $см^3$ раствора Г, накрывают стакан часовым стеклом и помещают на плитку в вытяжной шкаф, нагретый так, чтобы не менее чем через 10 мин раствор нагрелся до температуры кипения. Кипятят раствор в течение 1 мин. Затем раствор быстро охлаждают в течение не более 10 мин и осторожно перемешивают 3 – 4 круговыми движениями во время охлаждения. Раствор над осадком сливают при помощи вакуума через стеклянный тигель (0 – 4) или фильтрующий тигель типа ТФ ПОР 16, предварительно высушенный до постоянной массы при 250°С. Осадок промывают путем декантации шестью порциями воды объемом 30 $см^3$ каждая. Оставшийся осадок количественно переносят в стеклянный тигель и промывают четырехкратно водой, обращая внимание на то, чтобы вода каждый раз была полностью удалена.

Стеклянный тигель с осадком сушат при 250°С до постоянной массы.

Массовую долю фосфора в пересчете на P_2O_5 (X_4) в процентах вычисляют по формуле $$X_4 = \frac{m_1 \cdot 0{,}032074 \cdot V_2 \cdot 100}{m \cdot V\text{-}} = \frac{m_1 \cdot 3{,}2074 \cdot V_2}{m \cdot V\text{-}},$$

где m – масса навески анализируемой пробы, г; m_1 – масса высушенного осадка, г; V_2 – объем мерной колбы, применяемый при извлечении фосфора, $см^3$; V- – объем анализируемого раствора, отобранный для анализа, $см^3$; $0{,}032074$ – коэффициент пересчета фосфоромолибдата на P_2O_5.

За результат анализа принимают среднее арифметическое двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми при доверительной вероятности $P = 0,95$ не должны превышать:
при массовой доле от 3 до 10% P_2O_5 – 0,2%,
при массовой доле свыше 10 до 55% P_2O_5 – 0,4%.

Реактивы и растворы

1. Тигель фильтрующий по ГОСТу 9775, типа ТФ ПОР 16 или тигель G-4.

2. Кислота азотная по ГОСТу 4461, плотностью 1,4 г/см^3.

3. Реактив молибденовый, готовят из растворов.

Раствор А: 70 г дигидромолибдата натрия растворяют в 150 см^3 воды в стакане вместимостью 400 см^3.

Раствор Б: 60 г моногидрата лимонной кислоты растворяют в 150 см^3 воды в стакане вместимостью 1 л, добавляют осторожно 85 см^3 раствора азотной кислоты, охлаждая.

Раствор В: раствор А постепенно прибавляют к раствору Б при перемешивании.

Раствор Г: 100 см^3 воды наливают в стакан вместимостью 400 см^3, добавляют 35 см^3 раствора азотной кислоты, 5 см^3 раствора хинолина и перемешивают.

Раствор Г постепенно прибавляют к раствору В, перемешивают и оставляют на 24 ч. Раствор фильтруют через стеклянный тигель G-4 или фильтрующий тигель типа ТФ ПОР 16 (без промывания водой), добавляют 280 см^3 ацетона, доводят водой до объема 1 л и тщательно перемешивают.

При помутнении фильтрата необходимо профильтровать раствор вторично через ту же воронку. Раствор хранят в холодном месте не более одного месяца.

Определение содержания фосфора титриметрическим хинолиномолибденовым методом

Метод основан на осаждении фосфора в виде фосформолибдата хинолина, фильтровании осадка), растворении его в избытке титрованного раствора гидроокиси натрия н титровании избытка гидроокиси натрия раствором соляной кислоты в присутствии смешанного индикатора: тимолового синего и фенолфталеина.

Ход анализа

В коническую колбу вместимостью 500 см^3 отбирают пипеткой такое количество анализируемого раствора, приготовленного одним из методов, перечисленных на с. 506 – 513, чтобы он содержал от 4 до 50 мг P_2O_5. Раствор разбавляют водой до объема около 100 см^3 (при извлечении фосфора реактивом Петермана к анализируемому раствору доливают 10 см^3 азотной кислоты и осаждают фосфор в виде фосформолибдата хинолина способом, указанным на с. 519 – 520).

Раствор с осадком фильтруют методом декантации через плотный фильтр «синяя лента». Затем осадок промывают декантацией поочередно порциями волы объемом 50 $см^3$ до исчезновения кислой реакции промывных вод в присутствии метилового оранжевого. Затем промывают еще два раза. Во время фильтрования, промывания и дальнейшего проведения анализа необходимо следить за тем, чтобы не высушить осадок. Фильтр с осадком переносят в колбу, в которой был осажден осадок. Затем добавляют не более 10 $см^3$ воды, помещают колбу на магнитную мешалку и перемешивают до разрушения осадка. Затем из бюретки добавляют 50 $см^3$ раствора гидроокиси натрия и перемешивают, вращая колбу кругообразными движениями. Осадок должен легко раствориться.

Полное растворение осадка проверяют по отсутствию видимых желтых частиц. Добавляют 1 $см^3$ раствора смешанного индикатора и оттитровывают избыток раствора гидроокиси натрия раствором соляной кислоты до изменения фиолетового окрашивания раствора последователь-но в голубой, а затем в четко желтый цвет.

Массовую долю фосфора в пересчете на P_2O_5 (X_5) в процентах вычисляют по формуле

$$X_5 = \frac{(50 - V_1) \cdot 0{,}01366 \cdot V_2 \cdot 100}{m \cdot V} = \frac{V_2 \cdot (50 - V_1) \cdot 0{,}1366}{m \cdot V},$$

где V – объем анализируемого раствора, $см^3$; V_1 – объем точно 0,5 н. раствора соляной израсходованный на титрование, $см^3$; V_2 – объем мерной колбы, применяемый при извлечении фосфора, $см^3$; m – масса навески анализируемой пробы, г; *0,001366* – масса фосфора в пересчете на P_2O_5, соответствующая 1 $см^3$ точно 0,5 н. раствора гидроокиси натрия, г.

За результат анализа принимают среднее арифметическое двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми при доверительной вероятности P = 0,95 не должны превышать:

- при массовой доле от 3 до 10% P_2O_5 – 0,2%;
- при массовой доле свыше 10 до 55% P_2O_5 – 0,4%.

Реактивы и растворы

1. Кислота соляная по ГОСТу 3118, 0,5 н. раствор.
2. Кислота азотная по ГОСТу 4461, плотностью 1,4 $г/см^3$.
3. Реактив молибденовый, приготовление см. на с. 521.
4. Натрия гидроокись по ГОСТу 4328, 0.5 н. раствор.
5. Индикатор смешанный, состоящий из тимолового синего и фенолфталеина, готовят по СТ СЭВ 809.

Примечание. Поправочный коэффициент раствора гидроокиси натрия и соляной кислоты определяют по смешанному индикатору.

Определение содержания фосфора методом титрования с применением хлористого магния

Метод основан на титровании фосфора раствором хлористого магния в щелочной водно-спиртовой среде в присутствии тимолфталексона и фенолфталеина в качестве индикатора после предварительной маскировки присутствующих катионов (*Ca, Fe, Al*) с трилоном Б и триэтаноламином.

Подготовка к анализу

В стакан вместимостью 250 см^3 отбирают пипеткой 25 см^3 раствора сравнения фосфорнокислого калия, добавляют 10 см^3 воды, 10 см^3 аммониевого буферного раствора, 35 см^3 этилового спирта (ацетона) от 2 до 3 капель фенолфталеина и на кончике шпателя тимолфталексона. Затем при постоянном перемешивании на магнитной мешалке добавляют из бюретки половину количества хлористого магния, необходимою для полного осаждения фосфатов (12 – 13 см^3), и перемешивают около 15 мин. Голубая окраска раствора изменяется на розовую. Затем добавляют на кончике шпателя тимолфталексона н дотитровывают раствор, добавляя небольшими порциями раствор хлористого магния, в конце титрования раствор хлористого магния добавляют по каплям до получения голубой окраски раствора, не исчезающей в течение 1 мин.

Необходимо провести не менее трех параллельных титрований раствора сравнения.

Поправочный коэффициент раствора хлористого магния (*K*) вычисляют по формуле $K = 25/V_{10}$, где V_{10} – объем 0,05 М раствора хлористого магния, израсходованный на титрование 25 см^3 0,05 М раствора сравнения фосфорнокислого калия, см^3.

Ход анализа

В стакан вместимостью 250 см^3 отбирают пипеткой такое количество анализируемого раствора, приготовленного с использованием реактива Петермана (с. 507), раствора соляной кислоты (с. 511), воды (с. 513), чтобы он содержал от 55 до 80 мг P_2O_5 при высоком содержании кальция в удобрениях, добавляют 10 – 15 мл раствора трилона Б, а в остальных случаях – 2 см^3 раствора трилона Б.

Объем добавляемого раствора трилона Б должен быть таким, чтобы объем раствора хлористого магния, израсходованный на его оттитровывание, составлял от 2 до 3 см^3. Затем добавляют несколько капель раствора триэтаноламина. 15 см^3 раствора аммиака и на кончике шпателя тимолфталексона. Избыток трилона Б оттитровывают раствором хлористого магния до перехода серо-голубой окраски раствора в голубую (*титрование I*).

Затем добавляют 10 см^3 аммониевого буферного раствора и такой объем этилового спирта или ацетона, чтобы его массовая доля в растворе составляла около 50%, добавляют 2 – 3 капли фенолфталеина и при постоянном перемешивании раствора на магнитной мешалке добавляют из бюретки около половины объема раствора хлористого магния, необходимого для полного осаждения фосфатов. Раствор перемешивают в течение 5 мин, голубая окраска раствора при этом переходит в розовую. Добавляют на кончике шпателя тимолфталексона и затем, при постоянном перемешивании, дотитровывают раствор, добавляя раствор хлористого магния, сначала небольшими порциями, а в конце титрования по каплям до получения голубой окраски раствора, которая сохраняется в течение 1 мин (*титрование II*).

Массовую долю фосфора в пересчете на P_2O_5 (X_6) в процентах вычисляют по формуле $$X_6 = \frac{V_1 \cdot 0{,}003549 \cdot V_2 \cdot 100}{m \cdot V} = \frac{V_1 \cdot 0{,}3549 \cdot V_2}{m \cdot V},$$

где V – объем анализируемого раствора, отобранный для анализа, см^3; V_1 – объем точно 0,05 М раствора хлористого магния, израсходованный на титрование фосфора (*титрование II*), см^3; V_2 – объем мерной колбы, применяемый при извлечении фосфора, см^3; *0,003549* – масса фосфора в пересчете на P_2O_5, соответствующая 1 см^3 точно 0,05 М раствора хлористого магния, г; m – масса навески анализируемой пробы, г.

За результат анализа принимают среднее арифметическое двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 0,4% при доверительной вероятности $P = 0{,}95$.

Реактивы и растворы

1. Спирт этиловый по ГОСТу 11547-76 или ацетон по ГОСТу 2603.
2. Аммиак водный по ГОСТу 3760, 10%-й раствор.
3. Раствор буферный аммониевый, готовят следующим образом: 50 г хлористого аммония растворяют в воде, добавляют 400см^3 аммиака плотностью 0,91 г/см^3, разбавляют водой до объема 1 л и перемешивают.
4. Магний хлористый по ГОСТу 4209, 0.5 М раствор.
5. Фенолфталеин (индикатор) по ГОСТу 5850, 1%-й раствор в этиловом спирте.
6. Калий фосфорнокислый однозамещенный (по Соренсону), раствор сравнения, 0.05 М раствор готовят следующим образом: 4,7011 г фосфорнокислого калия (KH_2PO_4) растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 250 см^3 и доводят водой до метки.
7. Триэтаноламин.
8. Тимолфталексон готовят следующим образом: 1 г тимолфталексона тщательно растирают с 50 г хлористого натрия.
9. Соль динатриевая этилендиаминтетрауксусной кислоты, двухводная (трилон Б, ГОСТ 10652), 0.1 М раствор.

Методы определения содержания калия (ГОСТ 20851.3)

Общие требования

При проведении анализа применяют мерную посуду, реактивы квалификации «чистый для анализа» («ч.д.а») и дистиллированную воду по ГОСТу 6709. Растворы индикаторов готовят по ГОСТу 4919.1.

Отбор и подготовка проб проводят в соответствии с ГОСТ 21560.0 и нормативно-технической документацией на конкретный вид удобрений. Отобранную пробу измельчают и просеивают через сито с отверстиями размером не более 0,25 мм.

Для подготовки анализируемого раствора взвешивают 5 г просеянной пробы с погрешностью не более 0,001 г, помещают в мерную колбу вместимостью 500 $см^3$, добавляют 150 - 200 $см^3$ воды, доводят до кипения и кипятят в течение 19 минут. Затем раствор охлаждают, доводят водой до метки, перемешивают и фильтруют через сухой складчатый фильтр в сухой стакан, отбрасывая первую порцию фильтрата объемом 50 $см^3$.

♦ При анализе сложных удобрений подготовку анализируемого раствора допускается проводить следующим образом: 5 г анализируемого продукта взвешивают с погрешностью не более 0,001 г, помещают в мерную колбу вместимостью 500 $см^3$, приливают 400 $см^3$ воды и перемешивают на механическом встряхивателе в течение 30 мин. Затем объем раствора доводят водой до метки, перемешивают и фильтруют через фильтр «синяя лента», первые порции фильтрата отбрасывают.

♦ В присутствии двойных сульфатов типа сингенита растворение проводят в слабом растворе соляной кислоты при слабом кипячении. Данные о количествах соляной кислоты в процессе растворения (времени и температуре нагревания) устанавливаются нормативно-технической документацией на конкретный продукт.

Весовой тетрафенилборатный метод определения содержания калия в однокомпонентных калийных удобрениях

Сущность метода заключается в осаждении калия тетрафенилборатом натрия в уксуснокислой среде с последующим высушиванием и взвешиванием полученного осадка тетрафенилбората калия.

Ход анализа

При анализе удобрений с массовой долей более 25% K_2O, отбирают 25 $см^3$ фильтрата, приготовленного, как описано на с. 524, в мерную колбу вместимостью 250 $см^3$, доводят водой до метки, тщательно перемешивают и отбирают 50 $см^3$ полученного раствора в стакан вместимостью 100 $см^3$.

При анализе удобрений с массовой долей менее 25% K_2O,

отбирают пипеткой 50 см^3 отфильтрованного раствора, в мерную колбу вместимостью 250 см^3, доводят объем полученного раствора водой до метки, тщательно перемешивают и отбирают 50 см^3 полученного раствора в стакан вместимостью 100 см^3.

К приготовленному раствору добавляют 1-2 капли метилового красного и 10%-й раствор уксусной кислоты до перехода окраски раствора в розовый цвет. Если раствор при прибавлении индикатора сразу принимает розовую окраску, его нейтрализуют 0,1 н. раствором гидроокиси натрия до перехода окраски раствора в желтую, а затем добавляют уксусную кислоту до восстановления розовой окраски. Раствор нагревают на водяной бане до 40°С и осаждают тетрафенилборат калия, добавляя с помощью пипетки или бюретки при помешивании 10 см^3 3,5%-го раствора тетрафенилбората натрия.

Раствору с осадком дают отстояться на водяной бане в течение 5 мин, охлаждают в кристаллизаторе с холодной водой или в проточной воде до комнатной температуры и отфильтровывают через предварительно высушенный и взвешенный фильтрующий тигель.

Осадок из стакана переносят на фильтр и промывают небольшими порциями (3 – 4 см^3) промывного раствора, каждый раз полностью отбрасывая раствор. Затем осадок промывают три раза порциями по 5 см^3 холодной воды. Общий расход промывных вод должен составлять 50 см^3. Фильтр с осадком высушивают в сушильном шкафу при 120°С до постоянной массы.

Допускается проводить анализ без двойного разбавления. При анализе хлористого калия, сернокислого калия и 40%-й калийной смешанной соли отбирают пипеткой 5 см^3 фильтрата, приготовленного как описано на с. 524, а при анализе калимагнезии и калийно-магниевого концентрата – 10 см^3 фильтрата в стакан вместимостью 100 см^3 и разбавляют водой до 30 см^3.

Массовую долю калия в сухом веществе в пересчете на K_2O (X и X_1) в процентах вычисляют по формулам:

- при анализе удобрений с массовой долей K_2O более 25%

$$X = \frac{m \cdot 0{,}1314 \cdot 500 \cdot 250 \cdot 100}{m_1 \cdot 25 \cdot 50} - \frac{100}{(100 - X_в)},$$

- при анализе удобрений с массовой долей K_2O менее 25%

$$X_1 = \frac{m \cdot 0{,}1314 \cdot 500 \cdot 250 \cdot 100}{m_1 \cdot 50 \cdot 50} - \frac{100}{(100 - X_в)},$$

При определении *массовой доли калия* в пересчете на K_2O в необезвоженном продукте формулы будут иметь следующий вид:

- при анализе удобрений с массовой долей K_2O более 25%

$$X = \frac{m \cdot 0{,}1314 \cdot 500 \cdot 250 \cdot 100}{m_1 \cdot 25 \cdot 50},$$

♦ при анализе удобрений с массовой долей K_2O менее 25%

$$X_1 = \frac{m \cdot 0{,}1314 \cdot 500 \cdot 250 \cdot 100}{m_1 \cdot 50 \cdot 50}$$

При проведении анализа без операции двойного разбавления раствора массовую долю калия в сухом веществе в пересчете на K_2O (X' и X_1') в процентах вычисляют по формулам:

при анализе удобрений с массовой долей K_2O более 25%

$$X' = \frac{m \cdot 0{,}1314 \cdot 500 \cdot 100}{m_1 \cdot 5} - \frac{100}{(100 - X_в)},$$

при анализе удобрений с массовой долей K_2O менее 25%

$$X_1' = \frac{m \cdot 0{,}1314 \cdot 500 \cdot 100}{m_1 \cdot 10} - \frac{100}{(100 - X_в)},$$

При определении массовой доли калия в пересчете на K_2O в не обезвоженном продукте формулы будут иметь следующий вид:

при анализе удобрений с массовой долей K_2O более 25%

$$X' = \frac{m \cdot 0{,}1314 \cdot 500 \cdot 100}{m_1 \cdot 5}$$

при анализе удобрений с массовой долей K_2O менее 25%

$$X_1' = \frac{m \cdot 0{,}1314 \cdot 500 \cdot 100}{m_1 \cdot 10}$$

где m – масса осадка тетрафенилбората калия, г; m_1 – масса навески анализируемой пробы, г; $0{,}1314$ – коэффициент пересчета тетрафенилбората калия на K_2O; $X_в$ – массовая доля влаги, определяется по ГОСТу 20851.4, %.

Коэффициент пересчета K_2O на KCl составляет 1,583.

За результат анализа принимают среднее арифметическое двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 0,8%.

Посуда, реактивы и растворы

1. Тигли фильтрующие по ГОСТу 9775, типа ТФ ПОР 16 или тигель G-4.

2. Алюминий хлористый по ГОСТу 3759, ч., 0,5%-й раствор.

3. Кислота уксусная по ГОСТу 61, «х.ч.» 1 и 10%-й раствор.

4. Тетрафенилборат натрия, «ч.д.а», 3,5%-й раствор, готовят следующим образом: 35 г тетрафенилбората натрия взвешивают с погрешностью не более 0,05 г и растворяют при комнатной температуре в 500 $см^3$ воды, приливают 5 $см^3$ 0,5%-го раствора хлористого алюминия, перемешивают и после отстаивания в течение не менее 12 ч фильтруют через бумажный фильтр «синяя лента» в мерную колбу вместимостью 1 $дм^3$. Первые порции фильтрата приливают обратно к фильтруемому раствору и продолжают фильтровать через тот же фильтр. В зависимости от количества анализируемых проб объем приготовляемого раствора можно увеличить или уменьшить, соответственно пропорционально увеличив или уменьшив количество используемых реактивов.

5. Раствор промывной: готовят следующим образом: к 100 $см^3$ 1%-й уксусной кислоты прибавляют 3 – 4 $см^3$ 3,5%-го раствора тетрафенилбората натрия.

6. Метиловый красный (индикатор) по ГОСТу 5853, 0,1%-й раствор в 60%-м спирте.

7. Спирт этиловый технический по ГОСТу 17299.

8. Вода дистиллированная по ГОСТу 6709.

9. Натрия гидроокись по ГОСТу 4328, 0,1 н. раствор.

Весовой тетрафенилборатный метод определения содержания калия в сложных удобрениях

Сущность метода заключается в осаждении калия тетрафенолборатом натрия в щелочной среде, с предварительным связыванием мешающих определению примесей формалином и трилоном Б, и последующем высушивании и взвешивании полученного осадка тетрафенолбората калия.

Ход анализа

Отбирают 10 $см^3$ фильтрата, приготовленного как описано на с. 524, переносят в стакан вместимостью 150 $см^3$, добавляют 20 $см^3$ формалина (если концентрация формалина меньшая, то рассчитывают требуемое количество из расчета 8 г формальдегида на пробу), 10 $см^3$ раствора трилона Б и в присутствии 2 – 3 капель раствора фенолфталеина нейтрализуют 1 н. раствором гидроокиси натрия до появления розовой окраски. Раствор нагревают до кипения, затем при помешивании добавляют из пипетки или бюретки 20 $см^3$ раствора тетрафенилбората натрия и немедленно охлаждают до комнатной температуры; при этом выпадает белый кристаллический осадок.

Допускается операцию добавления тетрафенилбората натрия проводить при комнатной температуре.

После отстаивания в течение 15 мин раствор с осадком фильтруют через предварительно высушенный и взвешенный фильтрующий тигель. Осадок на фильтре промывают промывной жидкостью 4 – 5 раз порциями по 5 – 6 $см^3$, затем промывают 10 – 15 $см^3$ воды и сушат в сушильном шкафу при 120°С до постоянной массы.

Массовую долю калия в пересчете на K_2O (X_2) в процентах вычисляется по формуле

$$X_2 = \frac{m \cdot 0{,}1314 \cdot 500 \cdot 10}{m_1 \cdot 10}$$

где m – масса осадка тетрафенилбората калия, г; m_1 – масса анализируемого продукта, г; *0,1314* – коэффициент пересчета тетрафенилбората калия на K_2O.

За результат анализа принимают среднее арифметическое двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 0,5% при доверительной вероятности $P = 0{,}95$.

Аппаратура, реактивы и растворы

1. Тигель фильтрующий по ГОСТу 9775, типа ТФ ПОР 16 или аналогичного типа.

2. Натрия гидроокись по ГОСТу 4328, 1 и 0,2 н. растворы.

3. Формалин технический по ГОСТу 1625.

4. Фенолфталеин (индикатор) по ГОСТу 5850, 1%-й спиртовой раствор.

5. Соль динатриевая этилендиаминтетрауксусной кислоты, двухводная (трилон Б), 0,2 н. раствор, готовят следующим образом: 37,2 г трилона Б взвешивают с погрешностью не более 0,1 г, растворяют в мерной колбе вместимостью 1000 $см^3$, доводят объем раствора водой до метки, перемешивают и фильтруют.

6. Тетрафенилборат натрия, 3,5%-й раствор, готовят по п. 4 с. 527, перед разбавлением до 1000 $см^3$ добавляют 10 $см^3$ 0,2 н. раствора гидроокиси натрия.

7. Раствор промывной, готовят следующим образом: к 100 $см^3$ воды добавляют 3-4 $см^3$ 3,5%-го раствора тетрафенилбората натрия.

8. Вода дистиллированная (ГОСТ 6709).

Пламенно-фотометрический метод определения калия в сложных и однокомпонентных удобрениях

Метод основан на измерении интенсивности излучения калия, вводимого в пламя в виде аэрозоля. Метод применим для удобрений с массовой долей K_2O не более 30% и сульфата калия.

Ход анализа

50 $см^3$ отфильтрованного раствора, приготовленного как описано на с. 524, отбирают пипеткой в мерную колбу вместимостью 250 $см^3$, доводят водой до метки и тщательно перемешивают. 25 $см^3$ полученного раствора отбирают в мерную колбу вместимостью 250 $см^3$, доводят водой до метки и тщательно перемешивают. Полученный раствор вводят в пламенный фотометр, снимают показания прибора и по графику находят концентрацию калия в анализируемом растворе, затем измерения повторяют и получают второй результат.

При определении по методу ограничивающих растворов сравнения перед началом измерений в распылитель вводят раствор сравнения с максимальным содержанием хлористого калия и устанавливают стрелку измерительного прибора на деление, соответствующее данному раствору сравнения на графике.

При проведении измерений в распылитель вводят поочередно анализируемый раствор и два ограничивающих раствора сравнения, для одного из которых отсчет по шкале больше, а для другого – меньше, чем для анализируемого. Для исключения влияния изменения давления газа и воздуха измерения повторяют в обратном порядке. Для расчетов берут среднее значение из двух измерений.

Построение градуировочного графика. Измеряют интенсивность излучения растворов сравнения и строят градуировочный график, откладывая по оси абсцисс концентрации калия в растворах сравнения, по оси ординат – соответствующие им показания прибора.

Масштаб градуировочного графика: по оси абсцисс $1 \cdot 10^{-3}$ мг/$см^3$ K^+ – мм; по оси ординат одно деление прибора – 2 мм. Каждая точка градуировочного графика

должна представлять собой среднее арифметическое из трех результатов измерений.

При значительных колебаниях давлений воздуха и газа рекомендуется применять метод ограничивающих растворов сравнения (см. ниже).

Массовую долю калия в необезвоженном продукте в пересчете на K_2O в процентах вычисляют по формулам:

- при определении по градуировочному графику (X_2)

$$X_2 = \frac{(C_1 + C_2)}{2} - \frac{500 \cdot 250 \cdot 250 \cdot 1{,}205 \cdot 100}{m_1 \cdot 50 \cdot 25},$$

- при определении по методу ограничивающих растворов (X_3)

$$X_3 = (C_1' + \frac{(C_2' - C_1')(I_X - I_1)}{I_2 - I_1} - \frac{500 \cdot 250 \cdot 250 \cdot 1{,}205 \cdot 100}{m_1 \cdot 50 \cdot 25},$$

где C_1 и C_2 – концентрации калия, полученные по градуировочному графику при первом и повторном определении, мг/см^3; C_1' – концентрация калия в растворе сравнения с меньшей концентрацией, мг/см^3; C_2' – концентрация калия в растворе сравнения с большей концентрацией, мг/см^3; I_1, I_2 – показания прибора при измерении растворов сравнения с меньшей и большей концентрацией калия, соответственно; I_x – показатели прибора при измерении анализируемого раствора; m_1 – масса навески анализируемой пробы, мг; *1,025* – коэффициент пересчета K^+ на K_2O.

За результат анализа принимают среднее арифметическое двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 5% относительно среднего результата определяемой величины.

Допускается проводить анализ следующим образом: для сложных удобрений 5 см^3 фильтрата, приготовленного как описано на с. 524, помещают в мерную колбу вместимостью 200 см^3, добавляют 10 см^3 соляной кислоты, доводят водой до метки и перемешивают. Полученный раствор фотометрируют.

При анализе однокомпонентных удобрений 5 см^3 фильтрата, приготовленного, как описано на с. 524, при анализе калимагнезии, калийно-магниевого концентрата и сульфата калия и 10 см^3 при анализе каинита, переносят в мерную колбу вместимостью 500 см^3, доводят водой до метки и тщательно перемешивают. Полученные растворы фотометрируют.

Массовую долю калия в необезвоженном продукте в пересчете на K_2O (X', X_1') в процентах вычисляют по формулам:

- при определении по градуировочному графику для сложных удобрений

$$X_2' = \frac{(C_1 + C_2)}{2} - \frac{500 \cdot 200 \cdot 1{,}205 \cdot 100}{m_1 \cdot 5},$$

- при определении по методу ограничивающих растворов для калимагнезии, калийно-магниевого концентрата и сульфата калия

$$X_3' = (C_1' + \frac{(C_2' - C_1')(I_X - I_1)}{I_2 - I_1} - \frac{500 \cdot 500 \cdot 1{,}205 \cdot 100}{m_1 \cdot 5},$$

♦ для каинита

$$X_3'' = (C_1' + \frac{(C_2' - C_1')(I_X - I_1)}{I_2 - I_1} - \frac{500 \cdot 500 \cdot 1{,}205 \cdot 100}{m_1 \cdot 10}.$$

При необходимости пересчета массовой доли калия на сухое вещество значения, вычисленные по формулам, умножают на коэффициент $100/(100 - X_в)$, где $X_в$ – массовая доля влаги, определяется по ГОСТу 20851.4, %.

За результат анализа принимают среднее арифметическое двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми при доверительной вероятности $P = 0{,}95$ не должны превышать 0,5% при массовой доле от 5 до 10% K_2O; 1,0% при массовой доле свыше 11% до 20% K_2O и 1,5% при массовой доле свыше 21 до 30% K_2O и для сульфата калия.

Аппаратура, материалы и реактивы

1. Фотометр пламенный типа ПМФ, ПФЛ-1 или спектрофотометр (пламенный или атомно-абсорбционный типа "Сатурн") или другой аналогичный прибор.

2. Калий хлористый для спектрального анализа, «х.ч.» или по ГОСТу 4234, «х.ч.», дважды перекристаллизованный.

3. Калий, основной раствор с концентрацией 1 мг/см^3, готовят по ГОСТу 4212.

4. Кислота соляная по ГОСТу 3118, 2 н. раствор.

5. Калий, растворы сравнения, готовят следующим образом: в мерные колбы вместимостью 500 см^3 вносят основной раствор в следующих объемах:

Концентрация калия в растворах сравнения, мг/см^3	0,00	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05
Объем основного раствора, см^3	0	5	10	15	20	25

Точные данные о растворах, добавляемых к растворам сравнения, устанавливают в нормативно-технической документации на конкретный продукт.

Для сложных удобрений допускается приготовление растворов сравнения проводить следующим образом: в мерные колбы вместимостью 200 см^3 вносят основной раствор и соляную кислоту в следующих количествах:

Концентрация калия в растворе сравнения, мг/см^3	0,00	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05
Объем основного раствора, см^3	0	2	4	6	8	10
Объем соляной кислоты, см^3	10	10	10	10	10	10

Растворы доводят водой до метки и тщательно перемешивают.

Растворы сравнения при анализе однокомпонентных удобрений готовят так же, но без введения соляной кислоты.

Радиометрический метод определения калия в однокомпонентных и сложных удобрениях

Сущность метода заключается в измерении *бета*-излучения естественного изотопа калия K^{40}.

Градуировка прибора

Градуировка прибора выполняется в соответствии с техническим описанием и инструкцией по его эксплуатации.

При использовании ЛБК при определении калия в хлористом калии, 40%-й калийной смешанной соли и сложных удобрениях в качестве образца сравнения используют хлористый калий для спектрального анализа, «х.ч.», массовую долю окиси калия (K_2O), в котором принимают за 63,18%.

При определении калия в сульфате калия, калимагнезии и калийно-магниевом концентрате в качестве образца сравнения используют сернокислый калий «ос.ч.», массовую долю окиси калия (K_2O), в котором принимают за 54,06%.

Коэффициент предварительного пересчета выбирают с таким расчетом, чтобы время измерения составляло 300 – 400 с.

Фон измеряют с хлористым натрием.

При использовании РПС 2-03 А и других аналогичных приборов для определения фона в кювету засыпают чистый NaCl. Измеряют фон не менее пяти раз по 10 мин.

Величину фона вычисляют по формуле $$n_\Phi = \frac{\Sigma N_\Phi}{m' t_\Phi}, \qquad (I)$$

где n_ϕ – число импульсов; t_ϕ – время измерения, мин; m' – число измерений, и находят среднее значение.

При дальнейшей работе фон проверяют, измеряя его два раза в день по 10 мин. Около прибора не должно быть никаких радиоактивных препаратов.

В качестве пробы сравнения используют соответствующее калийное удобрение, отвечающее техническим требованиям, нормированным в НТД для данной марки и сорта, в котором массовая доля калия определена тетрафенилборатным методом (с. 524).

Для измерения скорости счета пробу сравнения засыпают в кювету до метки. В соответствии с инструкцией к прибору измеряют скорость счета пробы сравнения не менее пяти раз по 20 мин и вычисляют среднее значение скорости счета по формуле $$n_{ПС} = \frac{\Sigma N_{ПС}}{m' t_{ПС}} - n_\phi, \qquad (II)$$

где $n_{ПС}$ – число импульсов от пробы сравнения; $t_{ПС}$ – время измерения пробы сравнения, мин; m' – число измерений; n_ϕ – фон, вычисленный по формуле *(I)*.

Величину скорости счета пробы сравнения на единицу концентрации K_2O (на 1% K_2O) в (мин.% K_2O)$^{-1}$ далее вычисляют по формуле $$Q_{ПС} = \frac{n_{ПС}}{X_{ПС}}, \qquad (III)$$

где $n_{ПС}$ – среднее значение скорости счета пробы сравнения, вычисленное по формуле *(II)*; $X_{ПС}$ – массовая доля K_2O в пробе сравнения, %.

Ход анализа

При использовании ЛБК-1Ц в кювету датчика с помощью мерного стакана засыпают пробу, уплотняя ее специальным устройством. Кювету очищают снаружи от солевой пыли и ставят в рабочее положение.

Подготавливают прибор по инструкции и включают кнопку «Пуск». По истечении заданного времени прибор автоматически прекращает счет. С табло прибора записывают результат измерения a_1

(массовая доля K_2O в процентах) и повторно нажимают кнопку «Пуск». После прекращения счета записывают второй результат a_2.

При пользовании РПС2-03А или других аналогичных приборов прибор подготавливают к работе в соответствии с инструкцией. В кювету засыпают до метки анализируемую пробу, очищают кювету снаружи от солевой пыли и ставят в рабочее положение. Дважды измеряют скорость счета в течение 5 – 10 мин, записывают число импульсов первого измерения N_1 и число второго измерения N_2.

Массовую долю калия в пересчете на K_2O (X_4, X_4', X_4'', X_4''') в процентах вычисляют по формулам:

♦ при определении на ЛБК

в необезвоженном продукте $$X_4 = \frac{a_1 + a_2}{2},$$

в пересчете на сухое вещество $$X_4' = \frac{a_1 + a_2}{2} \cdot \frac{100}{(100 - X_в)},$$

♦ при определении на РПС2-03А

в необезвоженном продукте $$X_4 = \frac{N_1 + N_2 - 2t_{пр} \cdot n_ф}{2Q_{ПС} \cdot t_{пр}},$$

в пересчете на сухое вещество:

$$X_4'' = \frac{N_1 + N_2 - 2t_{пр} \cdot n_ф}{2Q_{ПС} \cdot t_{пр}} \cdot \frac{100}{(100 - X_в)},$$

где a_1 – массовая доля K_2O по результату 1-го измерения,%; a_2 – массовая доля K_2O по результату 2-го измерения,%; N_1; N_2 – число импульсов; $t_{пр}$ – время измерений пробы, мин; $n_ф$ – величина фона, $мин^{-1}$; $Q_{ПС}$ – величина скорости счета пробы сравнения на единицу концентрации K_2O, определенная по формуле *(III)*; $X_в$ – массовая доля влаги, определяется по ГОСТу 20851.4, %.

Коэффициент пересчета K_2O на KCl составляет *1,583*.

За результат анализа принимают среднее арифметическое двух параллельных определений, допускаемые расхождение между которыми не должны превышать 0,8% для однокомпонентных удобрений и 0,4% для сложных удобрений.

Аппаратура и реактивы

1. Приборы *бета*-концентратомер калия типа ЛБК комплект электронной аппаратуры РПС2 – 03А (в дальнейшем РПС2 – 03А) или другие аналогичные приборы.
2. Калий хлористый для спектрального анализа, «х.ч.»
3. Калий сернокислый, «ос.ч.»
4. Натрий хлористый по ГОСТу 4233, «х.ч.»

Расчетный метод определения калия в хлористом калии

Сущность метода заключается в вычислении содержания хлористого калия вычитанием из 100% содержания хлористого натрия и суммы содержаний остальных примесей (нерастворимого остатка, солей кальция и магния), определяемых химическими методами.

Пламенно-фотометрический метод определения хлористого натрия

Ход анализа

5 г анализируемого продукта, взвешенного с погрешностью не более 0,001, помещают в мерную колбу вместимостью 500 см^3, растворяют в воде, доводят объем до метки водой и тщательно перемешивают. Если раствор мутный, то часть раствора отфильтровывают в сухую колбу вместимостью 250 см^3, отбрасывая первые порции фильтрата.

Перед началом измерений в распылитель вводят раствор сравнения с максимальным содержанием хлористого натрия и устанавливают стрелку измерительного прибора на делении, соответствующем данному раствору сравнения на графике.

При проведении измерений в распылитель вводят поочередно анализируемый раствор и два ограничивающих раствора сравнения, для одного из которых отсчет по шкале больше, а для другого меньше, чем для анализируемого. Для исключения влияния изменения давления газа и воздуха измерения повторяют в обратном порядке. Для расчетов берут среднее значение.

Градуировочный график, используют для проверки правильности приготовления растворов сравнения (см. далее). Каждый раствор сравнения трижды замеряют на пламенном фотометре и строят градуировочный график, откладывая по оси абсцисс концентрации хлористого натрия в растворах сравнения, а по оси ординат – соответствующие им показания прибора. Если при трехкратном измерении какого-либо раствора сравнения средний результата выпадает из графика, считают, что данный раствор приготовлен неправильно, и его готовят вновь.

Индекс раствора сравнения	*Количество раствора, А см^3*	*Концентрация NaCl в растворе сравнения,%*
0	0	0
0,5	2,5	0,005
1,0	5,0	0,010
1,5	7,5	0,015
2,0	10,0	0,020
2,5	12,5	0,025
3,0	15,0	0,030
4,0	20,0	0,040
5,0	25,0	0,050
6,0	30,0	0,060
7,0	35,0	0,070
8,0	40,0	0,080

Массовую долю хлористого натрия (X_5) в процентах вычисляют по формуле

$$X_5 = (C_1 + \frac{(C_2 - C_1)(I_X - I_1)}{I_2 - I_1}) \cdot \frac{100}{(100 - X_в)},$$

где C_1 – массовая доля хлористого натрия в пробе, равная индексу раствора сравнения с меньшей концентрацией хлористого натрия, %; C_2 – массовая доля хлористого натрия в пробе, равная индексу раствора сравнения с большей концентрацией хлористого натрия, %; I_1, I_2 – показания прибора при измерении растворов сравнения с меньшей и большей концентрацией хлористого натрия соответственно; Ix – показания прибора при измерении анализируемого раствора; $X_в$ – массовая доля влаги, определяемая по ГОСТу 20851.4, %.

За результат анализа принимают среднее арифметическое двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 8 отн. %.

Аппаратура, реактивы и растворы.

1. Фотометр пламенный типа ПФМ, ФПЛ-1 или другой аналогичный прибор.

2. Калий хлористый для спектрального анализа, «х.ч.» или по ГОСТу 4234 «х.ч.», дважды перекристаллизированный.

3. Серебро азотнокислое по ГОСТу 1277, «ч.д.а», 1%-й раствор.

4. Вода дистиллированная по ГОСТу 6709-72.

5. Натрий хлористый, раствор А; готовят следующим образом: 5 г хлористого натрия (ГОСТ 4233, «х.ч.»), взвешенного с погрешностью не более 0,001 г, количественно переносят в мерную колбу вместимостью 500 см^3, растворяют в воде, доводят до метки водой и тщательно перемешивают.

6. Раствор Б; готовят следующим образом: 48,5 г хлористого калия взвешенного с погрешностью не более 0,01 г, помещают в мерную колбу вместимостью 500 см^3, растворяют в воде, доводят до метки водой и тщательно перемешивают.

7. Для приготовления растворов сравнения в мерные колбы вместимостью 500 см^3 вносят раствор А в количествах, указанных в таблице (с. 533), и по 50 см^3 раствора Б. Растворы доводят водой до метки и тщательно перемешивают.

Растворы А, Б и растворы сравнения хранят в полиэтиленовой посуде.

Индекс раствора сравнения численно равен содержанию хлористого натрия в анализируемой пробе, выраженному в весовых процентах.

Метод определения нерастворимого в воде остатка

Ход анализа

10 г хлористого калия взвешивают с погрешностью не более 0,001 г и помещают в стакан вместимостью 300 – 400 см^3, прибавляют 150 см^3 воды, перемешивают и доводят до кипения. Затем раствор отфильтровывают в мерную колбу вместимостью 500 см^3 через предварительно высушенный и взвешенный фильтр. Высушивание и взвешивание фильтра производится в бюксе.

Нерастворимый остаток переносят на фильтр и промывают горячей водой до исчезновения реакции на хлор-ион в промывных водах (проба с раствором азотнокислого серебра). По охлаждении фильтрата колбу доливают водой до метки и тщательно перемешивают. Раствор используют для определения кальция и магния.

Фильтр с нерастворимым остатком высушивают до постоянной массы в сушильном шкафу при температуре 105°С.

Массовую долю нерастворимого в воде остатка (X_6) в процентах вычисляют по формуле $$X_6 = \frac{(m - m_1) \cdot 100}{m_2},$$

где m – масса бюкса с фильтром и осадком, г; m_1 – масса бюкса с пустым фильтром, г; m_2 – масса анализируемого продукта, г.

За результат анализа принимают среднее арифметическое двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 0,1% для массовой доли до 0,3% нерастворимого остатка и 0,15% для массовой доли более 0,3% нерастворимого остатка.

Комплексонометрический метод определения сульфата кальция

Ход анализа

В коническую колбу вместимостью 250 см^3 отбирают пипеткой 100 см^3 раствора, полученного после отделения нерастворимого остатка (см. выше), добавляют 5 см^3 10%-го раствора гидроокиси кали 0,2 – 0,3 г мурексида или кислотного хром темно-синего и титруют 0,01 М раствором трилона Б до изменения малиновой окраски в фиолетовую (при титровании с мурексидом) или из розовой в сиреневую (при титровании с кислотным хром темно-синим).

Массовую долю сульфата кальция (X_7) в процентах вычисляют по формуле $$X_7 = \frac{V \cdot 0{,}001361 \cdot 500 \cdot 100}{m \cdot 100},$$

где V – объем трилона Б, израсходованный на титрование ионов кальция, см^3; $0{,}001361$ – титр точно 0,01 М раствора трилона Б по сернокислому кальцию; m – масса навески, г.

За результат анализа принимают среднее арифметическое двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 0,05%.

Реактивы и растворы

1. Кислота соляная по ГОСТу 3118, «х.ч.», разбавленная 1:1.
2. Кальций углекислый по ГОСТу 4530, «х.ч.»
3. Натрий хлористый по ГОСТу 4233, «х.ч.»
4. Вода дистиллированная по ГОСТу 6709.
5. Соль динатриевая этилендиамин-N,N,N′,N′-тетрауксусной кислоты двухводная (Трилон Б, ГОСТ 10652), 0,05 М и 0,01 М растворы; готовят по ГОСТу 10398.

Титр 0,05 М раствора трилона Б по сернокислому кальцию устанавливают по раствору углекислого кальция, приготовленного следующим образом: 2,496 г карбоната кальция, взвешенного с погрешностью не более 0,0005 г, переносят в мерную колбу вместимостью 1 л, растворяют в соляной кислоте и доводят до метки.

6. Калия гидроокись по ГОСТу 24363, «ч.д.а», 10%-й раствор.

7. Мурексид – аммонийная соль пурпуровой кислоты (индикатор); готовят следующим образом: 0,2 г мурексида тщательно растирают в ступке со 100 г хлорида натрия.

8. Кислотный хром темно-синий-2[(5-хлор-2-оксифенил-)-азо]–1,8-диоксинафталин-3,6-дисульфокислоты динатриевая соль; готовят следующим образом: 0,1 г кислотного хром темно-синего тщательно растирают с 20 г хлорида натрия.

Комплексонометрический метод определения шестиводного хлорида магния

Ход анализа

В коническую колбу вместимостью 250 см^3 отбирают пипеткой 100 см^3 раствора, полученного после отделения нерасворимого остатка (с. 535) прибавляют 10 см^3 аммиачного буферного раствора, 7 – 8 капель индикатора хромогена черного и титруют 0,01 М раствором трилона Б до перехода окраски из малиновой в голубую.

Массовую долю шестиводного хлорида магния (X_8) в процентах вычисляют по формуле

$$X_8 = \frac{(V_1 - V) \cdot 0{,}002033 \cdot 500 \cdot 100}{m \cdot 100},$$

где V – объем трилона Б, израсходованный на титрование ионов кальция, см^3; V_1 – объем трилона Б, израсходованный на титрование суммы ионов кальция и магния, см^3; *0,002033* – титр точно 0,01 М раствора трилона Б, выраженный по шестиводному хлористому магнию, г/см^3; m – масса навески анализируемого продукта, г.

За результат анализа принимают среднее арифметическое двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 0,05% для кристаллизационного хлористого калия и 0,14% для флотационного хлористого калия.

Массовую долю хлористого калия (X_9, X'_9) в процентах вычисляют по формулам:

- в сухом веществе $X_9 = 100 - X_5 \ (X_6 + X_7 + X_8)$
- в необезвоженном продукте $X'_9 = 100 - X_5 \ (X_6 + X_7 + X_8) - X_6$,

где X_5 – массовая доля хлористого натрия (см. с. 533),%; X_6 – массовая доля нерастворимого в воде остатка (см. с. 534),%; X_7 – массовая доля сульфата кальция (см. с. 534),%; X_8 – массовая доля шестиводного хлорида магния (см. с. 535),%; X_6 – массовая доля влаги, определяемая по ГОСТу 20851.4,%.

Коэффициент пересчета хлористого калия на K_2O составляет 0,632.

Реактивы и растворы

1. Хромоген черный ЕТ-00 (индикатор); 0,5%-й спиртовой раствор, содержащий 4 – 5 г солянокислого гидроксиламина в 100 см^3 раствора.

2. Гидроксиламин солянокислый по ГОСТу 5456, «х.ч.».

3. Аммоний хлористый по ГОСТу 3773, «х.ч.».

4. Аммиак водный по ГОСТу 3760, «х.ч.» 25%-й водный раствор.

5. Вода дистиллированная по ГОСТу 6709.

6. Раствор буферный аммиачный; готовят следующим образом: 67 г хлористого аммония растворяют в воде, прибавляют 570 см^3 25%-го водного раствора аммиака и объем раствора доводят водой до 1 л.

7. Соль динатриевая этилендиамин – N,N,N′,N′-тетрауксусной кислоты, двухводная (трилон Б, ГОСТ 10652), 0,05 М, 0,01 М растворы; готовят по ГОСТу 10398.

Титр 0,05 М раствора трилона Б по шестиводному хлористому магнию устанавливают по фиксаналу сернокислого магния.

Весовой метод определения калия в виде перхлората калия в однокомпонентных удобрениях

Метод основан на весовом определении ионов калия в виде перхлората калия.

Ход анализа

10 г анализируемой пробы, взвешенной с погрешностью не более 0,001 г, помещают в мерную колбу вместимостью 500 см^3 и после добавления около 300 см^3 воды кипятят в течение 30 мин., причем после 20 мин кипячения приливают 10 см^3 раствора соляной кислоты. К кипящему раствору медленно добавляют раствор хлористого бария до полного осаждения. Большого избытка следует избегать. После охлаждения доливают водой до метки, хорошо взбалтывают и фильтруют.

25,0 см^3 фильтрата (≥ 0,5 г применяемого количества) отбирают пипеткой в фарфоровую чашку и после добавления 7 см^3 раствора хлорной кислоты выпаривают на водяной бане до начинающегося высыхания. После охлаждения приливают 15 см^3 промывного спирта и пестиком растирают кристаллы пульпы. После осаждения осадок перхлората калия декантируют через фильтрующий тигель, предварительно высушенный при температуре 130 ± 5°С, охлаждают в эксикаторе и взвешивают. Общее количество жидкости, израсходованной на промывку, не должно превышать 70 см^3.

Массовую долю калия в пересчете на K_2O (X_{10}) в процентах, вычисляют по формуле

$$X_{10} = \frac{m \cdot 0{,}33995 \cdot 100}{m_1} = 67{,}990 \cdot m,$$

где m – масса осадка перхлората калия, г; m_1 – масса навески анализируемой пробы, г; $0{,}33995$ – коэффициент пересчета $KClO_4$ в K_2O.

Коэффициент пересчета K_2O на KCl составляет 1,583.

Коэффициент пересчета K_2O на K_2SO_4 составляет 1,8498.

За результат анализа принимают среднее арифметическое двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 0,2%.

Аппаратура, реактивы и растворы

1. Чашка фарфоровая, покрытая внутри темной глазурью, с внутренним диаметром 90 мм, вместимостью 85 $см^3$. Допускается применять чашки, покрытые белой глазурью.
2. Тигель фильтрующий по ГОСТу 9775, типа ТФ ПОР16 или G-4.
3. Пестик.
4. Кислота хлорная, 20%-й раствор, плотностью $1,13 \cdot 10^3$ $кг/м^3$.
5. Спирт этиловый технический по ГОСТу 17299.
6. Кислота соляная по ГОСТу 3118, раствор (1:1), приблизительно 18,5%-й раствор.
7. Барий хлористый по ГОСТу 4108, 1 н. раствор.
8. Спирт промывной, приготовленный следующим образом: 10 $см^3$ 20%-го раствора хлорной кислоты разбавляют до 1000 $см^3$ этиловым спиртом.

Объемный тетрафенилборатный метод определения калия

Метод основан на осаждении калия известным избыточным количество раствора тетрафенилбората натрия.

Избыточное количество раствора тетрафенилбората натрия определяют титрованием раствора бромистого цетилтриметиламмония. Мешающие проведению анализа ионы аммония переводят в гексаметилентетраамин воздействием формалина, а ионы кальция осаждают щавелевокислым натрием.

Ход анализа

Отбирают в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ анализируемый раствор, приготовленный как описано на с. 524, в количестве, указан-ном далее в таблице. При анализе удобрений с массовой долей более 30% K_2O, анализируемый раствор разбавляют по таблице.

Массовая доля калия K_2O ($^{n}_{0}K$)	*Разбавление ($см^3$ $см^3$)*	*Объём раствора, отобранного для анализа, $см^3$*
6,5 – 10,0 (5,4 – 8,3)	–	30
10,0 – 15,0 (8,3 – 12,5)	–	20
15,0 – 20,0 (12,5 – 16,6)	–	15
20,0 – 30,0 (16,6 – 25,0)	–	10
30,0 – 40,0 (25,0 – 33,2)	25/100	30
10,0 – 65,0 (33,2 – 54,0)	25/100	20

Отобранный раствор в мерной колбе нейтрализуют раствором гидроокиси натрия в присутствии бромфенолового синего до появления синей окраски.

После этого прибавляют 5 см^3 формалина, 2 см^3 раствора гидроокиси натрия и 4 см^3 раствора щавелевокислого натрия. С помощью бюретки прибавляют 40 см^3 раствора тетрафенилбората натрия. При прибавлении этого раствора содержимое колбы не перемешивается. После этого объем раствора доводят водой до метки, перемешивают и оставляют стоять 5 мин. Затем раствор фильтруют через сухой фильтр «синяя лента» в сухой стакан. Первые порции фильтрата (несколько кубических сантиметров) отбрасывают.

В титровальную колбу вместимостью 250 см^3 отбирают пипеткой 50 см^3 фильтрата, прибавляют 10 капель бромфенолового синего и раствор подкисляют соляной кислотой до появления желтой окраски.

Титр раствора (нормальность) *тетрафенилбората натрия* (N_1) вычисляют по формуле $$N_1 = \frac{0{,}5 \cdot V_1}{8\,(5V_1 - 2V_2)},$$

Титр раствора (нормальность) *бромистого цетилтриметиламмония* (N_2) вычисляют по формуле $$N_2 = \frac{0{,}5}{5V_1 \;\; 2V_2},$$

где V_1 – объем 0,02 н. раствора бромистого цетилтриметиламмония, израсходованный при определении титра этого раствора, см^3; V_2 – объем 0,02 н. раствора бромистого цетилтриметиламмония, израсходованный при определении титра раствора тетрафенилбората натрия, см^3.

Массовую долю калия в пересчете на К (X_{11}) в процентах вычисляют по формуле $$X_{11} = \frac{39{,}102 \cdot (40\,N_1 \;\; 2V_0 \cdot N_2) \cdot 1000 \cdot 100}{1000 \cdot p \cdot V \cdot m_1},$$

Массовую долю калия в пересчете на K_2O (X_{12}) в процентах вычисляют по формуле $$X_{11} = \frac{47{,}1017 \cdot (40N_1 \;\; 2V_0 \cdot N_2) \cdot 1000 \cdot 100}{1000 \cdot p \cdot V \cdot m_1},$$

где m_1 – масса навески анализируемого продукта, г; V_0 – объем 0,02 н. раствора бромистого цетилтриметиламмония, израсходованный при титровании, см^3; p – разбавление, т.е. отобранный объем (доведено до объема); V – объем раствора, отобранный пипеткой для анализа, см^3.

За результаты анализа принимают среднее арифметическое двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 0,5%.

Реактивы и растворы

1. Натрия гидроокись по ГОСТу 4328, раствор 200 г/л.

2. Кислота соляная по ГОСТу 3118, 0,1 н. раствор.

3. Формалин технический по ГОСТу 1625, нейтрализованный гидроокисью натрия в присутствии 1%-го спиртового раствора фенолфталеина.

4. Натрий щавелевокислый по ГОСТу 5839, раствор, насыщенный при комнатной температуре (при 20°С приблизительно 37 г/л).

5. Цетилтриметиламмоний бромистый, 0,02 н. раствор. готовят следующим образом: 7,3 г бромистого цетилметиламмония ($CH_3(CH_2)_{15}N(CH_3)_3Br$) растворяют в 30–55 $см^3$ воды и доводят водой до 1000 $см^3$. Раствор устойчив в течение 30 сут.

6. Алюминия гидрат окиси по ГОСТу 11841, «ч.д.а» Определение титра раствора бромистого цетилметиламмония проводят так же. как определение на с. 538, с той разницей, что в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ вместо раствора для анализа добавляют 25 $см^3$ воды. Для титрования отбирают пипеткой не 50 $см^3$, а только 20 $см^3$ фильтрата и добавляют 30 $см^3$ воды.

7. Натрия тетрафенилборат, 0,02 н. раствор, готовят следующим образом: 6,35 г тетрафенилбората натрия ($(C_6H_5)_4BNa$) растворяют в 500 $см^3$ воды, добавляют 6 г гидрата окиси алюминия и перемешивают в течение 10мин. После осаждения раствор фильтруют через фильтр «синяя лента» в мерную колбу на 1000 $см^3$.

Первые порции фильтрата возвращают в фильтруемый раствор и продолжают фильтровать через первоначальный фильтр. После окончания фильтрации осадок на фильтре промывают два раза 30 $см^3$ воды. Прозрачный фильтрат после добавления 1 $см^3$ раствора гидроокиси натрия доводят до объема 1000 $см^3$. Определение титра раствора тетрафенилбората натрия проводят так же, как указано на с. 538, с той разницей, что в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ вместо анализируемого раствора отбирают пипеткой 25 $см^3$ раствора сравнения хлористого калия. При анализе пользуются раствором тетрафенилбората натрия, предварительно выдержанным не менее 2 сут; можно использовать раствор, предварительно выдержанный даже несколько недель. Перед использованием раствор обязательно фильтруют и проверяют титр.

8. Калий хлористый по ГОСТу 4234, 0,02 н. раствор сравнения, готовят следующим образом: 1,4911 г хлористого калия, высушенного при температуре 120°С до постоянной массы (около 2 ч). Растворяют в воде и доводят объем раствора до 1000 $см^3$.

9. Бромфеноловый синий (индикатор).

ОРГАНИЧЕСКИЕ УДОБРЕНИЯ

Общие требования к методам анализа (ГОСТ 26712)

Пробу твердого органического удобрения массой не менее 1 кг измельчают механически, тщательно перемешивают и распределяют на ровной поверхности слоем толщиной не более 1 см. Из пяти точек пробы совком или шпателем отбирают 0,5 кг органического удобрения, которые используют для анализа.

Пробу жидкого органического удобрения, объемом не менее 1 $дм^3$ перемешивают с помощью лабораторной мешалки и отбирают из трех слоев порциями по 150 – 200 $см^3$ каждая 500 – 600 $см^3$ удобрения, которое используют для анализа.

Пробу органического удобрения с исходной влажностью хранят в холодильнике не более 1 месяца в полиэтиленовом пакете или стеклянной банке с притертой крышкой при температуре не выше 10° С с добавлением для консервации 3 $см^3$ толуола, тщательно перемешанного с удобрением.

После определения массовой доли влаги сухой остаток навески органического удобрения измельчают на лабораторной мельнице или в фарфоровой ступке и просеивают через сито с размером отверстий 1 мм до полного прохождения и помещают в полиэтиленовые пакеты или бюксы. Подготовленный таким образом остаток навески используют для последующего анализа.

Результат анализа органических удобрений в сухом состоянии пересчитывают на состояние удобрения с исходной влажностью, умножая на коэффициент K, который вычисляют по формуле

$$K = \frac{100 - X}{100},$$ где X – массовая доля влаги, %.

Результат анализа органических удобрений с исходной влажностью пересчитывают на сухое состояние, умножая на коэффициент K_1, который вычисляют по формуле

$$K_1 = \frac{100}{100 - X},$$ где X – массовая доля влаги, %.

Метод определения влаги и сухого остатка (ГОСТ 26713)

Из пробы, подготовленной для анализа, отбирают после ее тщательного перемешивания не менее чем из пяти точек навески массой 15 – 20 г для определения массовой доли влаги, 150 – 200 г для определения массовой доли сухого остатка. Взвешивания производят с погрешностью не более 0,1 г.

Выпаривательные чаши или бюксы предварительно высушивают в сушильном шкафу при температуре 105 – 110°С до постоянной массы и взвешивают с погрешностью не более 0,1 г.

Для определения массовой доли влаги навеску удобрения помещают в фарфоровую чашу или бюкс и ставят в сушильный шкаф, предварительно нагретый до температуры 105 – 110°С и высушивают в течение 5 ч. Затем чашу или бюкс с навеской вынимают из сушильного шкафа, охлаждают на воздухе в течение 30 мин. и взвешивают. Каждое последующее взвешивание проводят после высушивания в течение 30 мин и охлаждения чаши с навеской на воздухе в течение 30 мин.

Анализ считается законченным, если разность результатов двух последующих взвешиваний не превышает 0,1 г.

При определении массовой доли сухого остатка навеску органического удобрения помещают в фарфоровую чашу, помещают ее на водяную баню и выпаривают досуха при периодическом помешивании стеклянной палочкой. Затем чашу переносят в предварительно нагретый сушильный шкаф и высушивают при температуре 105 – 110°С до постоянной массы. Первое взвешивание проводят через 1 ч, повторное через 30 мин. Каждый раз перед взвешиванием чашу с навеской охлаждают на воздухе в течение 30 мин.

Анализ считается законченным, если разность результатов двух последующих взвешиваний не превышает 0,1 г.

Массовую долю сухого остатка (X) в процентах вычисляют по формуле

$$X = \frac{m_1 - m_2}{m} \cdot 100$$

где m_1 – масса чаши со стеклянной палочкой и сухим остатком, г; m_2–масса чаши со стеклянной палочкой, г; m–масса навески, г.

Массовую долю влаги (X_1) в процентах вычисляют по формуле (1) или (2):

$$X = \frac{m_3 - m_4}{m} \cdot 100 \qquad (1)$$

где m_3–масса чаши или бюкса с навеской до высушивания, г; m_4 –масса чаши или бюкса с навеской после высушивания, г; m–масса навески, г.

$$X_1 = 100 - X, \qquad (2)$$

где X – массовая доля сухого остатка, %.

Допускаемые расхождения между результатами двух параллельных определений массовой доли влаги при доверительной вероятности P=0,95 не должны превышать указанных значений:

Массовая доля влаги, %	до 30	от 30 до 70	от 70 до 92	более 92
Допускаемые расхождения, %	0,3	1,0	1,2	1,3

Допускаемые расхождения между результатами двух параллельных определений массовой доли сухого остатка при доверительной вероятности P = 0,95 не должны превышать 0,3%.

Предел возможных значений погрешности определения массовой доли влаги при доверительной вероятности P = 0,95 составляет, %:

± 0,3 – при массовой доле влаги до 30%, ± 0,8–от 30 до 70%;

± 0,9 – от 70 до 92%, ± 1,3 – св. 92%.

Метод определения золы (ГОСТ 26714)

Для определения массовой доли золы используют сухой остаток навески после определения массовой доли влаги. Из сухого остатка после его тщательного перемешивания отбирают не менее чем из 5 точек навеску для анализа. Масса навески должна быть 3 г. Взвешивание производят с погрешностью не более 0,001 г.

Фарфоровые тигли предварительно должны быть прокалены в муфельной печи при температуре 800°С до постоянной массы и взвешены с погрешностью не более 0,001 г.

Ход анализа

Навески сухого органического удобрения помещают в фарфоровые тигли. Тигли с навесками помещают в холодную муфельную печь, постепенно доводят температуру печи до 800°С и прокаливают при этой температуре в течение 2 ч.

Тигли с зольным остатком охлаждают в открытой выключенной печи, а затем в эксикаторе в течение 30 мин, после чего взвешивают с погрешностью не более 0,001 г.

Каждое последующее взвешивание проводят после озоления в течение 1 часа и охлаждения в течение 30 мин.

♦ Анализ считается законченным, если расхождение между результатами двух последующих взвешиваний не превышает 0,01 г.

Массовую долю золы (*X*) в процентах вычисляют по формуле

$$X = \frac{m_1 - m_2}{m} \cdot 100,$$

где m_1 – масса тигля с навеской после озоления, г; m_2 – масса тигля, г; m – масса навески, г.

Оценка результатов анализа и контроль точности по ГОСТу 26712.

Допускаемые расхождения между результатами двух параллельных определений при доверительной вероятности P=0,95 не должны превышать указанных значений:

Массовая доля золы, %	от 5 до 12	от 12 до 20	более 20
Допускаемые расхождения, %	0,3	0,5	1,0

Предел возможных значений погрешности определения массовой доли золы при доверительной вероятности P = 0,95 составляет, %: ± 0.3 – при массовой доле золы от 5 до 12%; ±0,4 – от 12 до 20%; ± 0,8 – свыше 20%.

Методы определения общего азота (ГОСТ 26715)

Определение общего азота по методу Кьельдаля

Метод основан на минерализации анализируемого удобрения при нагревании с концентрированной серной кислотой в присутствии перекиси водорода, смешанного катализатора или раствора фенола в серной кислоте, с последующей отгонкой аммиака в раствор борной кислоты и титровании серной кислотой.

Для определения массовой доли общего азота используют сухой остаток навески органического удобрения после определения массовой доли влаги.

Из сухого остатка после его тщательного перемешивания отбирают не менее чем из пяти точек навеску для анализа.

Масса навески должна быть 1,0 г. Взвешивание проводят с погрешностью не более 0,001 г.

Если анализ проводят через 12 ч и более после определения массовой доли влаги, сухой остаток навески подсушивают в сушильном шкафу в течение 1 ч при температуре 100 – 105°С.

Допускается проводить определение массовой доли общего азота в пробе удобрения с исходной влажностью. Пробу удобрения тщательно перемешивают и отбирают не менее чем из 5 точек навеску для анализа.

Масса навески должна быть 20 г. Взвешивание проводят с погрешностью не более 0,1 г.

Ход анализа

Минерализацию сухого органического удобрения проводят по методу Кьельдаля с использованием смешанного катализатора или перекиси водорода.

Навеску анализируемого удобрения помещают в колбу Кьельдаля, добавляют 20 $см^3$ концентрированной серной кислоты и 0,5 г смешанного катализатора. Содержимое колбы тщательно перемешивают легкими круговыми движениями, обеспечивая полное смачивание навески, и оставляют на 12 – 15 ч. Затем колбу помещают в вытяжной шкаф на колбонагреватель или над газовой горелкой таким образом, чтобы ее ось была наклонена под углом 35° к вертикали. В отверстие колбы помещают воронку и осторожно нагревают до тех нор, пока содержимое колбы не перестанет пениться. Потом нагрев усиливают, доводя смесь в колбе до слабого кипения.

Кипячение продолжают до полного обесцвечивания раствора. После обесцвечивания раствор в колбе кипятят еще в течение 15 – 20 мин, а затем колбу снимают с колбонагревателя и охлаждают.

При минерализации навески сухого органического удобрения в присутствии перекиси водорода навеску анализируемого удобрения помещают в колбу Кьельдаля, добавляют 20 $см^3$ концентрированной серной кислоты, 3 $см^3$ раствора перекиси водорода массовой долей 30% и составляют на 12 – 15 ч. Затем в колбу добавляют еще 3 – 5 $см^3$ того же раствора перекиси водорода и помещают колбу в вытяжной шкаф на колбонагреватель. Далее минерализацию удобрения проводят так же, как и со смешанным катализатором.

Минерализацию органического удобрения с исходной влажностью проводят по методам Кьельдаля или Иодльбауэра.

При минерализации органического удобрения с исходной влажностью по методу Кьельдаля в присутствии смешанного катализатора навеску анализируемого удобрения помещают в колбу Кьельдаля, заливают 40 $см^3$ концентрированной серной кислоты и добавляют 1,0 – 1,5 г смешанного катализатора. Далее минерализацию удобрения проводят, как для сухого органического удобрения.

По методу Иодльбауэра навеску анализируемого удобрения помещают в колбу Кьельдаля и добавляют 50 – 60 $см^3$ раствора фенола в серной кислоте. При этом происходит разогревание содержимого колбы. После охлаждения колбы в нее добавляют 2,0 – 3,0 г цинковой пыли, содержимое колбы перемешивают, через 30 – 40 мин закрывают воронкой, помещают в вытяжной шкаф на колбонагреватель и подогревают.

Сначала минерализацию проводят на слабом нагреве, а затем нагрев усиливают, доводя смесь в колбе до слабого кипения. Когда жидкость в колбе примет красноватый оттенок, колбу охлаждают и добавляют в нее 3,0 – 4,0 г смеси сернокислой меди и сернокислого калия. Колбу вновь нагревают, и содержимое кипятят до обесцвечивания.

Через 15 – 20 мин после обесцвечивания раствора колбу снимают с колбонагревателя и охлаждают.

После охлаждения минерализат из колбы Кьельдаля количественно переносят в мерную колбу вместимостью 250 см^3, предварительно налив в нее 25 – 30 см^3 воды. При этом происходит разогревание содержимого колбы. После охлаждения объем раствора доводят до метки дистиллированной водой.

Полученный раствор минерализата служит исходным для определе-ния массовой доли общих форм азота, фосфора и калия.

Для определения общего азота в реакционную колбу установки для отгонки аммиака (рис. 31) помещают 35 – 50 см^3 анализируемого раствора. В приемник помещают 30 – 40 см^3 раствора борной кислоты массовой долей 4% и прибавляют 3 – 5 капель смешанного индикатора. Приемник подставляют под холодильник так, чтобы барбатер был полностью погружен в раствор борной кислоты.

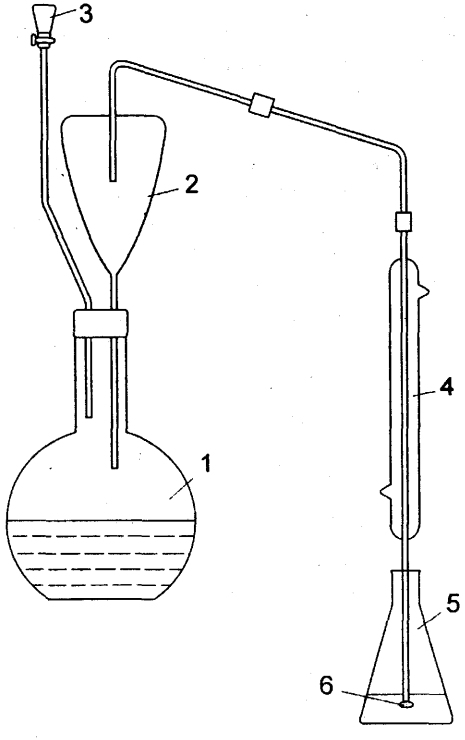


Рис. 31. Прибор для отгонки аммиака:

1 – реакционная колба вместимостью 0,25 – 0,5 л;
2– каплеуловитель;
3 – капельная воронка с краном;
4 – холодильник;
5 – приемник;
6 – барбатер.

В реакционную колбу через воронку прибора осторожно добавляют 25 – 30 см^3 раствора гидрата окиси натрия массовой долей 40%. Воронку ополаскивают дистиллированной водой с таким расчетом, чтобы объем жидкости в реакционной колбе составил 100 – 150 см^3,

закрывают кран воронки, начинают нагрев реакционной колбы и доводят раствор до кипения. Нагрев регулируют так, чтобы кипение было спокойным. Отгонку ведут до тех пор, пока не перегонится 2/3 объема жидкости. Полноту отгонки контролируют пробой конденсата с реактивом Несслера. При отсутствии аммиака не должно появляться желтой окраски реактива Несслера.

Допускается проводить проверку полноты отгонки по индикаторной бумаге (pH 6 – 7).

После окончания отгонки приемник отсоединяют, барбатер обмывают дистиллированной водой, собирая промывные воды в приемник, и содержимое приемника титруют раствором серной кислоты концентрации 0,05 моль/дм^3 до перехода зеленой окраски в малиновую.

Одновременно проводят контрольный опыт через все стадии анализа в тех же условиях и с тем же количеством реактивов, но без анализируемого удобрения для внесения поправки в результат анализа, с целью учета содержания примесей аммония в реактивах.

Массовую долю общего азота (X) в процентах в удобрении с исходной влажностью вычисляют по формуле

$$X = \frac{0{,}0014 \cdot (V_1 - V_0) \cdot 250 \cdot 100}{V_2 \cdot m},$$

где *0,0014* – масса азота, соответствующая 1 см^3 раствора серной кислоты молярной концентрации 0,05 моль/дм^3, израсходованной на титрование анализируемого раствора, г; V_1 – объем раствора серной кислоты молярной концентрации 0,05 моль/дм^3, израсходованный на титрование анализируемого раствора, см^3; V_0 – объем раствора серной кислоты молярной концентрации 0,05 моль/дм^3, израсходованный на титрование в контрольном опыте, см^3; *250* – объем исходного раствора, см^3; V_2 –объем анализируемого раствора, взятый для отгонки, см^3; m –масса навески, г.

Массовую долю общего азота (X_1) в процентах в сухом удобрении вычисляют по формуле $X_1 = \frac{0{,}0014 \cdot (V_1 - V_0) \cdot 250 \cdot 100}{V_2 \cdot m} + X_{ам}$,

где $X_{ам}$ – массовая доля аммонийного азота, %, на сухой продукт.

Допускаемые расхождения между результатами двух параллельных определений при доверительной вероятности P = 0,95 не должны превышать указанных значений

Массовая доля общего азота, % на сухой продукт	до 1.0	от 1,0 до 3.0	более 3,0
Допускаемые расхождения, %	0,1	0,2	0,3

Предел возможных значений погрешности определения массовой доли общего азота при доверительной вероятности P=0,95 составляет,%: ± 0,1 – при массовой доле общего азота до 1%, ± 0,2 – от 1 до 3%, ± 0,3 – более 3%.

Реактивы

1. Смешанный катализатор: 100,0 г сернокислой меди и 3.0 г металлического селена смешивают и тщательно растирают в фарфоровой ступке.

2. Раствор фенола в серной кислоте: 40,0 г фенола помещают в плоскодонную колбу из термостойкого стекла вместимостью 2 $дм^3$ и приливают 1 $дм^3$ концентрированной серной кислоты. Колбу закрывают корковой пробкой с длинной стеклянной трубкой (около 65 см), ставят на нагретую водяную баню и выдерживают на ней при периодическом и осторожном взбалтывании до полного растворения фенола. Раствор хранят в холодильнике не более 3 мес.

3. Раствор борной кислоты массовой долей 4%: 40,0 г борной кислоты растворяют при нагревании в 200 $см^3$ дистиллированной воды в мерной колбе вместимостью 1 $дм^3$. После охлаждения объем раствора доводят до метки дистиллированной водой.

4. Раствор гидрата окиси натрия массовой долей 40%: 400,0 г гидрата окиси натрия помещают в фарфоровый стакан вместимостью 1 $дм^3$ и приливают 600 $см^3$ дистиллированной воды при постоянном помешивании стеклянной палочкой. Перемешивание раствора ведут до тех пор, пока гидрат окиси натрия не растворится полностью. После охлаждения раствор помещают в полиэтиленовый флакон и закрывают пробкой. Раствор хранят в вытяжном шкафу не более 3 мес.

5. Смесь сернокислой меди и сернокислого калия: 10,0 г сернокислой меди и 100,0 г сернокислого калия смешивают и тщательно растирают в фарфоровой ступке.

Фотометрический метод определения общего азота в модификации ЦИНАО

Метод основан на минерализации сухого органического удобрения при нагревании с концентрированной серной кислотой в присутствии перекиси водорода или смешанного катализатора с последующим измерением оптической плотности окрашенного индофенольного соединения, образующегося в щелочной среде при взаимодействии аммиака с гипохлоритом и салицилатом натрия.

Ход анализа

Минерализация органического удобрения проводится так же, как и при определении общего азота по методу Кьельдаля.

Для определения общего азота в химические стаканы или конические колбы вместимостью 100 $см^3$ или бытовые банки в кассетах помещают по 0,5 $см^3$ раствора, полученного после разведения минерализата, и растворов сравнения и добавляют по 50 $см^3$ рабочего окрашивающего раствора. Растворы перемешивают, прибавляют ню 2,5 $см^3$ рабочего раствора гипохлорита натрия и снова перемешивают. Растворы оставляют на 1 ч при комнатной температуре для полного развития окраски.

Оптическую плотность растворов измеряют относительно раствора сравнения № 1, при длине волны 655 нм, используя кюветы толщиной поглощающего свет слоя 10 мм.

Одновременно через все стадии анализа проводят контрольный опыт в тех же условиях и с тем же количеством реактивов, но без анализируемого продукта для внесения поправки в результат анализа, для учета содержания примесей аммония в реактивах.

Пользуясь градуировочным графиком, по результатам определения оптической плотности анализируемых растворов находят массовую долю общего азота.

Массовую долю общего азота (X_2) в процентах в пересчете на сухой продукт вычисляют по формуле $X_2 = (X_3 - X_4) + X_{(av)}$,

где X_3 – массовая доля азота в анализируемой пробе, найденная по градуировочному графику, % на сухой продукт; X_4 – массовая доля азота в контрольном опыте, найденная по градуировочному графику, %; $X_{(av)}$ – массовая доля аммонийного азота, % на сухой продукт,

Если результат измерения оптической плотности анализируемого раствора выходит за пределы градуировочного графика, определение повторяют, предварительно разбавив анализируемый раствор дистиллированной водой. Результат, найденный по графику, умножают на коэффициент Р, показывающий, во сколько раз проведено разбавление, который вычисляют по формуле

$$P = \frac{V_1}{V},$$

где V_1 – объем разбавленного раствора, см^3; V – объем анализируемого раствора, взятый для разведения, см^3.

Допускаемые расхождения между результатами двух параллельных определений при доверительной вероятности P = 095 не должны превышать указанных значений:

Массовая доля общего азота, % на сухой продукт	до 1,0	от 1,0 до 3,0	более 3,0
Допускаемые расхождения, %	0,1	0,2	0,3

Предел возможных значений погрешности определения массовой доли общего азота при доверительной вероятности P = 0,95 составляет, %: ± 0,1 – при массовой доле общего азота до 1,0%, ±0,2 – от 1,0 до 3,0%, ± 0,3 – более 3%.

Реактивы

1. Запасной окрашивающий раствор: 56,7 г салицилата натрия, 16,7 г сегнетовой соли и 27,0 г гидрата окиси натрия помещают в мерную колбу вместимостью 1 дм^3 и приливают 700 см^3 дистиллированной воды. Раствор кипятят около 20 мин для удаления следов аммиака. После охлаждения в полученный раствор добавляют 0,4 г нитропруссида натрия и доводят объем раствора до метки дистиллированной водой. Реактив хранят в склянке из темного стекла в холодильнике в течение 1 мес.

2. Рабочий окрашивающий раствор: в плоскодонную колбу вместимостью 4000 см^3 помещают 250 см^3 запасного окрашивающего раствора, приливают 2000 см^3 дистиллированной воды и 100 см^3 раствора гидрата окиси натрия концентрации 2 моль/дм^3, а затем 4,7 г трилона Б. Раствор готовят и используют в день проведения анализа.

3. Раствор гипохлорита натрия* (запасной): приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ. Массовая доля активного хлора в полученном растворе должна быть не менее 6,0%. Реактив хранят в склянке из темного стекла в холодильнике, апериодически проверяя массовую долю хлора в растворе.

Рабочий раствор гипохлорита натрия: запасной раствор гипохлорита натрия, разбавляют дистиллированной водой без аммиака до массовой концентрации

свободного хлора 0,12 г в 100 см^3. Рабочий раствор гипохлорита натрия готовят и используют в день анализа.

Образцовый раствор хлористого аммония: 1,910 г хлористого аммония, предварительно высушенного до постоянной массы при температуре 100 – 105°С, растворяют в дистиллированной воде в мерной колбе вместимостью 1 дм^3 и доводят объем раствора до метки дистиллированной водой. В 1 см^3 полученного раствора содержится 0,5 мг азота. Раствор хранят в холодильнике не более 3 мес.

Растворы сравнения. В мерные колбы вместимостью 100 см^3 помещают 0, 2, 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32 см^3 образцового раствора хлористого аммония. Затем в каждую колбу добавляют по 50 см^3 дистиллированной воды, по 8 см^3 концентрированной серной кислоты и содержимое колб перемешивают. После охлаждения объемы растворов доводят дистиллированной водой до метки и снова перемешивают. Растворы сравнения хранят в холодильнике не более 3 мес. Массовая доля азота в полученных растворах соответственно: 0; 0,25; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5; 4,0% на сухой продукт. Растворы сравнения используют для градуировки фотоэлектроколориметра в день проведения анализа.

Окрашивание растворов сравнения проводят аналогично окрашиванию анализируемых растворов и одновременно с ними.

Методы определения аммонийного азота (ГОСТ 26716)

Определение аммонийного азота по методу Кьельдаля

Метод основан на извлечении аммонийного азота из пробы органического удобрения раствором соляной кислоты концентрации 0,05 моль/дм^3 с последующей отгонкой аммиака в раствор борной кислоты и титровании серной кислотой.

Массовую долю аммонийного азота определяют в пробе органического удобрения с исходной влажностью.

После тщательного перемешивания из пробы отбирают не менее чем из 5 точек навеску для анализа. Масса навески должна быть 10 г.

Взвешивание проводят с погрешностью не более 0,1 г.

Ход анализа

Для извлечения аммонийного азота навеску удобрения помещают в колбу вместимостью 500 см^3 и приливают 200 см^3 раствора соляной кислоты молярной концентрации 0,05 моль/дм^3. Колбу помещают на аппарат для встряхивания жидкости и встряхивают в течение 30 мин. Допускается настаивание полученного раствора в течение 12 – 15 ч. Полученный раствор взбалтывают и отфильтровывают через сухой складчатый фильтр в колбу вместимостью 500 см^3. Содержимое на фильтре промывают 2–3 порциями (по 30 – 50 см^3 каждая) раствора соляной кислоты молярной концентрации 0,05 моль/дм^3. Объем полученного в колбе фильтрата доводят до метки той же кислотой.

Полученный раствор используют для определения аммонийного азота по методу Кьельдаля и фотометрически в модификации ЦИНАО.

Для отгонки аммиака в реакционную колбу установки для отгонки приливают 30 – 50 см^3 анализируемого раствора.

В приемник помещают 30 – 40 $см^3$ раствора борной кислоты массовой долей 4% и прибавляют 3 – 5 капель смешанного индикатора. Приемник подставляют под холодильник прибора так, чтобы барбатер был погружен в раствор борной кислоты.

В реакционную колбу через воронку осторожно добавляют 25 – 30 $см^3$ раствора гидрата окиси натрия массовой долей 40%. Воронку ополаскивают дистиллированной водой с таким расчетом, чтобы объем жидкости в реакционной колбе составил 100 – 150 $см^3$, закрывают кран воронки и начинают нагрев реакционной колбы. Колбу нагревают с помощью газовой горелки или нагревателя для колб так, чтобы обеспечить равномерное кипение раствора.

Отгонку ведут до тех пор, пока не перегонится 2/3 объема жидкости. Полноту отгонки контролируют пробой конденсата с реактивом Несслера.

При отсутствии аммиака не должно появиться желтой окраски реактива Несслера.

Допускается проводить проверку полноты отгонки по индикаторной бумаге до pH 6 – 7.

После окончания отгонки приемник отсоединяют, барбатер обмывают водой, собирая промывные воды в приемник, и содержимое приемника титруют раствором серной кислоты концентрации 0,01 моль/$дм^3$ до перехода зеленой окраски в малиновую.

Одновременно проводят контрольный опыт через все стадии анализа, в тех же условиях и с тем же количеством реактивов, но без анализируемого продукта для внесения поправки в результат анализа, с целью учета содержания примесей аммония в реактивах.

Массовую долю аммонийного азота (X) в процентах в пробе органического удобрения с исходной влажностью вычисляют по формуле

$$X = \frac{0{,}00028 \cdot (V_1 - V_0) \cdot 500 \cdot 100}{V_2 \cdot m},$$

где *0,00028* – масса азота, соответствующая 1 $см^3$ раствора серной кислоты концентрации 0,01 моль/$дм^3$, израсходованной на титрование анализируемого раствора, г; V_1 – объем раствора серной кислоты концентрации 0,01 моль/$дм^3$, израсходованный на титрование анализируемого раствора, $см^3$; V_0 – объем раствора серной кислоты концентрации 0,01 моль/$дм^3$, израсходованный на титрование в контрольном опыте, $см^3$; *500* – общий объем фильтрата, $см^3$; V_2 –объем фильтрата, взятый для отгонки, $см^3$; m – масса навески, г.

Пересчет результатов определения массовой доли аммонийного азота в органических удобрениях с исходной влажностью проводят на сухое удобрение.

Допускаемые расхождения между результатами двух параллельных определений при доверительной вероятности P = 0,95 не должны превышать указанных значений.

Массовая доля аммонийного азота, % на продукт с исходной влажностью	до 0,1	от 0,1 до 0.4	более 0,4
Допускаемые расхождения, %	0,03	0,07	0,10

Предел возможных значений погрешности определения массовой доли аммонийного азота при доверительной вероятности P = 0,95 составляет, в %: ± 0,03 – при массовой доле аммонийного азота до 0,1%, ± 0,06 – от 0,1 до 0,4%.

Реактивы

1. Раствор соляной кислоты концентрации 0,05 моль/дм^3: 4,1 см^3 концентрированной соляной кислоты разбавляют дистиллированной водой в мерной колбе вместимостью 1 дм^3, доводя объем раствора до метки. Раствор хранят в холодильнике не более 3 мес.

2. Раствор серной кислоты концентрации 0,01 моль/дм^3: 28,0 см^3 концентрированной серной кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 1 дм^3, предварительно налив в нее небольшое количество дистиллированной воды. После охлаждения содержимого объем раствора в колбе доводят до метки дистиллированной водой. Из полученного раствора отбирают 20 см^3, помещают в мерную колбу вместимостью 1 дм^3 и доводят объем раствора дистиллированной водой до метки. Раствор хранят в холодильнике не более 3 мес.

3. Раствор борной кислоты массовой долей 4%.

4. Раствор гидрата окиси натрия с массовой долей 40%.

Фотометрический метод определения аммонийного азота в модификации ЦИНАО

Метод основан на извлечении аммонийного азота раствором соляной кислоты концентрации 0,05 моль/дм^3 с последующим измерением оптической плотности окрашенного индофенольного соединения в фильтрате, образующегося в щелочной среде при взаимодействии аммиака с гипохлоритом и салицилатом натрия.

Ход анализа

Получение вытяжки проводят, как и по методу Кьельдаля.

При определении аммонийного азота в химические стаканы или конические колбы вместимостью 100 см^3 или бытовые банки помещают по 0,5 см^3 анализируемого раствора и растворов сравнения и добавляют по 50 см^3 рабочего окрашивающего раствора. Все растворы перемешивают, прибавляют по 2,5 см^3 рабочего раствора гипохлорита натрия, снова перемешивают и оставляют на 1 ч при комнатной температуре для полного развития окраски.

Оптическую плотность растворов измеряют относительно раствора сравнения № 1 (с наименьшей концентрацией) при длине волны 655 нм, используя кюветы толщиной поглощающего свет слоя 10 мм.

Одновременно через все стадии анализа проводят контрольный опыт в тех же условиях и с тем же количеством реактивов, но без анализируемого удобрения, для внесения поправки в результат анализа с целью учета содержания примесей аммония в реактивах.

Пользуясь *градуировочным графиком*, по результатам определения оптической плотности анализируемых растворов находят массовую долю аммонийного азота в процентах на продукт с исходной влажностью.

Массовую долю аммонийного азота (X_1) в процентах вычисляют по формуле $X_1 = X_2 - X_3$,

где X_2 – массовая доля аммонийного азота в анализируемой пробе, найденная по градуировочному графику, % на продукт с исходной влажностью; X_3 – массовая доля аммонийного азота в контрольном опыте, найденная по градуировочному графику, %. Проводят пересчет результатов массовой доли аммонийного азота на сухой продукт.

Если результат измерения оптической плотности анализируемого раствора выходит за пределы градуировочного графика, определение повторяют, предварительно разбавив анализируемый раствор дистиллированной водой. Результат, найденный по графику, умножают на коэффициент Р, показывающий, во сколько раз проведено разбавление, который вычисляют по формуле $P = \frac{V_1}{V}$,

где V_1 – объем разбавленного раствора, см^3; V – объем анализируемого раствора, взятый для разбавления, см^3.

Допускаемые расхождения между результатами двух параллельных определений при доверительной вероятности $P = 0{,}95$ не должны превышать указанных значений:

Массовая доля аммонийного азота, % на продукт с исходной влажностью	до 0,1	от 0,1 до 0,4	более 0,4
Допускаемые расхождения, %	0,03	0,07	0,10

Предел возможных значений погрешности определения массовой доли аммонийного азота при доверительной вероятности $P = 0{,}95$ составляет, %: ± 0,03 – при массовой доле аммонийного азота до 0,1%, ± 0,06 – от 0,1 до 0,4%.

Растворы сравнения

В мерные колбы вместимостью 100 см^3 помещают 0, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 см^{3}образцового раствора хлористого аммония. Затем в каждую колбу добавляют по 50 см^3 дистиллированной воды, по 8 см^3 концентрированной серной кислоты и содержимое колб перемешивают. После охлаждения объемы растворов доводят дистиллированной водой до метки и снова перемешивают.

Массовая доля азота в полученных растворах составляет соответственно 0; 0,025; 0,050; 0,100; 0,150; 0,200; 0,250; 0,300; 0,350% на продукт с исходной влажностью. Растворы сравнения хранят в холодильнике не более 3 мес. Их используют для градуировки фотоэлектроколориметра в день проведения анализа.

Окрашивание растворов сравнения проводят аналогично окрашиванию анализируемых растворов и одновременно с ними.

Определение содержания аммонийного азота в навозе (по Ромашкевичу)

Количество азота, содержащегося в навозе в виде свободного аммиака, углекислого аммония, солей органических и минеральных кислот, а также в поглощенном состоянии, является одним из важных показателей удобрительной ценности навоза. Этот азот является той частью общего азота, содержащегося в навозе, которая после внесения его в почву в первую очередь становится доступной для питания растений.

Принцип метода заключается в том, что при обработке навоза 0,05 н. раствором соляной кислоты имеющийся в навозе аммиак вытесняется и связывается ею по реакции: $NH_3 + HCl = NH_4Cl$.

Применение именно соляной кислоты обусловлено тем, что она в такой концентрации не вызывает гидролиза органического вещества. Аммоний в полученной вытяжке определяют на основе реакции солей аммония с реактивом Несслера (см. «Определение аммонийного азота в почве» с. 149 – 152). Интенсивность полученной окраски раствора пропорциональна содержанию аммония в растворе. Окрашенный раствор колориметрируют на фотоколориметре.

Определению аммония этим методом мешают имеющиеся в растворе ионы кальция и магния и другие примеси из-за образования ими с реактивом Несслера осадка и помутнения раствора. Устранить эти примеси можно прибавлением к раствору сегнетовой соли, которая связывает ионы кальция и магния в недиссоциирующие соединения.

Ход анализа.

Среднюю пробу навоза измельчают (при необходимости) ножницами так, чтобы длина отдельных соломин не превышала 1 см. Затем пробу тщательно перемешивают в большой фарфоровой чашке.

Навеску 10 г сырого навоза, взятую на технических весах, помещают в почвенную колбу на 250 – 300 $см^3$ и приливают 200 $см^3$ 0,05 н. раствора соляной кислоты. Содержимое колбы встряхивают на ротаторе 30 мин.

После встряхивания содержимое колбы фильтруют через двойной складчатый фильтр, отбросив первые мутные порции фильтрата. 10 $см^3$ прозрачного фильтрата переносят в мерную колбу на 250 $см^3$, доводят до метки дистиллированной водой не содержащей аммоний, тщательно перемешивают.

Из этой колбы берут пипеткой 25 $см^3$ исследуемого раствора в мерную колбу на 100 $см^3$, приливают 4 $см^3$ 25%-го раствора сегнетовой соли, доливают дистиллированной водой до объема 80 – 90 $см^3$, перемешивают и добавляют 4 $см^3$ реактива Несслера. Объем в колбе доводятдо метки и тщательно перемешивают.

Колориметрирование проводят с синим светофильтром, длина волны 400 – 440 нм. Содержание аммония находят по калибровочному графику (приготовление калибровочной шкалы см. с. 153 – 154).

Расчет. Количество аммония в навозе вычисляют по следующей формуле

$$Содержание\ NH_4\ (\%) = \frac{a \cdot p \cdot 100}{н},$$

где a – мг NH_4^+ по графику, p – разведение (200 /10) · (100/25) = 80, 100 – пересчет на %, $н$ – навеска навоза.(пример расчета см. с. 153 – 154).

Реактивы.

1.Соляная кислота 0,05 н.

2. Сегнетова соль, 25%-й раствор: 25 г реактива растворить в 75 см^3 дистиллированной воды не содержащей аммоний.

3. Реактив Несслера – используется готовый реактив заводского изготовления.

Метод определения общего фосфора (ГОСТ 26717)

Для определения массовой доли общего фосфора используют сухой остаток навески после определения массовой доли влаги.

Если определение массовой доли общего фосфора проводят через 12 ч и более после определения массовой доли влаги, остаток навески подсушивают в сушильном шкафу при температуре 100 – 105°С в течение 1 ч. Из сухого остатка после его тщательного перемешивания отбирают навеску для анализа. Масса навески должна быть 1,0 г.

Взвешивание проводят с погрешностью не более 0,001 г.

Минерализацию пробы сухого органического удобрения проводят в присутствии смешанного катализатора или перекиси водорода.

Ход анализа

В химические стаканы или конические колбы вместимостью 100 см^3 или бытовые банки в кассетах помещают по 2 см^3 анализируемого раствора и растворов сравнения, добавляют по 50 см^3 реактива Б, перемешивают и оставляют растворы на 30 мин при комнатной температуре для полного развития окраски. Оптическую плотность растворов измеряют относительно раствора сравнения № 1 на фотоэлектроколориметре с красным светофильтром или на спектрофотометре при длине волны 710 нм, используя кюветы толщиной поглощающего свет слоя 10 мм.

Одновременно через все стадии анализа проводят контрольный опыт в тех же условиях и с тем же количеством реактивов, но без анализируемого продукта для внесения поправки в результат анализа с целью учета содержания примесей фосфора в реактивах.

Пользуясь градуировочным графиком, по результатам определений оптической плотности анализируемых растворов находят массовую долю общего фосфора в процентах.

Массовую долю общего фосфора (X) в процентах в сухом удобрении вычисляют по формуле $X = X_1 - X_2$,

где X_1 – массовая доля общего фосфора в анализируемой пробе, найденная по градуировочному графику, % на сухой продукт; X_2 –массовая доля общего фосфора в контрольном опыте, найденная по градуировочному графику, %.

Проводят пересчет результатов анализа общего фосфора на продукт с исходной влажностью.

Если результат измерения оптической плотности анализируемого раствора выходит за пределы градуировочного графика, определение повторяют, предварительно разбавив минерализат дистиллированной водой. Результат, полученный по графику, умножают на коэффициент P, показывающий во сколько раз проведено разбавление, который вычисляют по формуле

$$P = \frac{V_1}{V},$$

где V_1 – объем разбавленного раствора, см^3; V – объем исходного раствора, взятый для разведения, см^3.

Допускаемые расхождения между результатами двух параллельных определений при доверительной вероятности P = 0,95 не должны превышать следующих значений:

Массовая доля общего фосфора, % на сухой продукт	до 1,0	от 1,0 до 2,0	от 2,0 до 5,0	более 5,0
Допускаемые расхождения, %	0,05	0,1	0,2	0,3

Предел возможных значений погрешности определения массовой доли общего фосфора при доверительной вероятности P = 0,95 составляет, %:

± 0,05 – при массовой доле общего фосфора от 0,2 до 1%;

± 0,1 – от 1 до 2%; ± 0,2 – от 2 до 5%; ± 0,3 – более 5%.

Реактивы

1. Смешанный катализатор.

2. Раствор серной кислоты концентрации 2,5 моль/дм^3: 600 – 700 см^3 дистиллированной воды помещают в мерную колбу вместимостью 1 дм^3 и приливают 140 см^3 концентрированной серной кислоты. Содержимое колбы при этом разогревается. После охлаждения содержимого колбы объем раствора доводят до метки дистиллированной водой. Раствор хранят в холодильнике не более 3 мес.

3. Реактив А: 12,0 г молибденовокислого аммония помещают в мерную колбу вместимостью 250 см^3 и приливают дистиллированную воду до метки. 0,29 г сурьмяно-виннокислого калия помещают в мерную колбу вместимостью 100 см^3 и приливают дистиллированную воду до метки.

После перемешивания и растворения реактивов оба раствора сливают в мерную колбу вместимостью 2000 см^3 и добавляют 1 см^3 раствора серной кислоты молярной концентрации 2,5 моль/дм^3. После тщательного перемешивания раствора и его охлаждения объем доводят до метки дистиллированной водой.

Реактив хранят в склянке из темного стекла в холодильнике не более 3 мес.

4. Реактив Б: 0,53 г аскорбиновой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 500 см^3 и приливают 100 см^3 реактива А. После растворения

аскорбиновой кислоты объем раствора доводят до метки дистиллированной водой. Раствор готовят и используют в день анализа.

5. Образцовый раствор однозамещенного фосфорнокислого калия: 1,916 г предварительно высушенного до постоянной массы при температуре 105 – 110°С однозамещенного фосфорнокислого калия растворяют в дистиллированной воде в мерной колбе вместимостью 1 $дм^3$ и доводят объем раствора до метки дистиллированной водой. Полученный раствор тщательно перемешивают. В 1 $см^3$ полученного раствора содержится 1 мг P_2O_5 и 0,66 мг K_2O.

Раствор используют для приготовления растворов сравнения при определении фосфора и калия.

6. Раствор сравнения. В мерные колбы вместимостью 500 $см^3$ помещают 0, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 20, 25 $см^3$ образцового раствора. В каждую колбу доливают до половины объема дистиллированную воду, добавляют 15 $см^3$ концентрированной серной кислоты. После охлаждения объем раствора в колбах доводят до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают.

Массовая доля P_2O_5, составляет в полученных растворах 0; 0,10; 0,20; 0,30; 0,40; 0,50; 0,60; 0,80; 1,00; 1,25% на сухой продукт. Растворы сравнения хранят в холодильнике не более 3 мес.

Растворы сравнения используют для градуировки фотоэлектроколориметра в день проведения анализа.

Окрашивание растворов сравнения проводят аналогично окрашиванию анализируемых растворов и одновременно с ними.

Метод определения общего калия (ГОСТ 26718)

Для определения массовой доли общего калия используют сухой остаток навески после определения массовой доли влаги.

Если определение массовой доли общего калия проводят через 12 ч и более после определения массовой доли влаги, остаток навески подсушивают в сушильном шкафу при температуре 100 – 105°С в течение 1 ч. Из подсушенного остатка после тщательного перемешивания отбирают навеску для анализа. Масса навески должна быть 1,0 г.

Взвешивание проводят с погрешностью не более 0,001 г.

Ход анализа

В химические стаканы вместимостью 50 $см^3$ помещают анализируемые растворы и растворы сравнения, вводят их в пламенный фотометр и снимают показания прибора.

Одновременно через все стадии анализа проводят контрольный опыт в тех же условиях и с тем же количеством реактивов, но без анализируемого продукта, для внесения поправки в результат анализа с целью учета содержания примесей калия в реактивах.

Пользуясь градуировочным графиком, по результатам определения оптической плотности анализируемых растворов находят массовую долю общего калия в процентах.

Массовую долю общего калия (X) в процентах вычисляют по формуле

$$X = X_1 \cdot X_2$$

где X_1 – массовая доля общего калия в анализируемой пробе найденная по градуировочному графику, % на сухой продукт; X_2 – массовая доля общего калия в контрольном опыте, найденная по градуировочному графику, %. Проводят пересчет результата анализа определения массовой доли общего калия на продукт с исходной влажностью.

Если результат измерения оптической плотности анализируемого раствора выходит за пределы градуировочного графика, определение повторяют, предварительно разбавив минерализат дистиллированной водой. Результат, полученный по графику, умножают на коэффициент Р, показывающий во сколько раз проведено разбавление, который вычисляют по формуле

$$P = \frac{V_1}{V},$$

где V_1 – объем разбавленного раствора, см^3; V – объем исходного раствора, взятый для разведения, см^3.

Допускаемые расхождения между результатами двух параллельных определений при доверительной вероятности $P = 0,95$ не должны превышать значений:

Массовая доля общего калия, % на сухой продукт	до 0,5	от 0,5 до 1,0	от 1,0 до 3,0
Допускаемые расхождения, %	0,03	0,05	0,10

Предел возможных значений погрешности определения массовой доли общего калия при доверительной вероятности $P = 0,95$ составляет, %:
± 0,03 – при массовой доле общего калия до 0,5%;
± 0,05 – от 0,5 до 1%; ± 0,1 – от 1 до 3%.

Реактивы

1. Смешанный катализатор.

2. Образцовый раствор однозамещенного фосфорнокислого калия.

3. Растворы сравнения. В мерные колбы вместимостью 500 см^3 помещают 0, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 см^3 образцового раствора. В каждую колбу доливают до половины объема дистиллированную воду, добавляют по 15 см^3 концентрированной серной кислоты, после охлаждения содержимого колб объемы растворов доводят до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают.

Массовая доля K_2O составляет в полученных растворах соответственно 0; 0,03; 0,16; 0,33; 0,50; 0,66; 0,82; 0,99; 1,16% на сухой продукт. Растворы сравнения хранят в холодильнике не более 3 мес. Растворы сравнения используют для градуировки пламенного фотометра в день проведения анализа. Фотометрирование растворов сравнения проводят одновременно с анализируемыми растворами.

Минерализация пробы сухого органического удобрения в присутствии смешанного катализатора или перекиси водорода.

Анализ торфа

Если в лабораторию для анализа доставлен воздушно-сухой торф, его измельчают на мельнице или растирают в ступке и просеивают через сито с отверстиями 0,25 мм; хранят аналитическую пробу в стеклянной банке с пришлифованной пробкой.

Определение кислотности торфа

Принцип определения кислотности торфов тот же, что и при определении кислотности почв, однако соотношение между навеской торфа и раствора экстрагента как правило шире.

Ход анализа

Для определения pH в водной или солевой вытяжке из средней пробы берут 4 г воздушно-сухого торфа (или соответствующее этой навеске количество сырого), помещают в почвенную колбу вместимостью около 500 $см^3$ и заливают 100 $см^3$ дистиллированной воды (при определении водного pH) или 100 $см^3$ 1 н. хлористого калия (при определении солевого pH), добавляют туда же несколько капель толуола, закрывают пробкой и взбалтывают на ротаторе до 30 мин или от руки 3 раза по 3 – 5 мин с перерывами в 1 – 2 ч.

Проводят определение pH на pH-метре, для которого не надо ждать отстаивания суспензии, а, наоборот, перед анализом содержимое колбы взбалтывают от руки еще раз.

Определение обменной кислотности торфа

Обменную кислотность торфа, вызываемую наличием как ионов водорода, так и ионов алюминия, определяют по методу А.В. Соколова, при более широком, чем для почв, отношении между торфом и хлористым калием, например 5 : 250.

Описание хода определения обменной кислотности и пример расчета даны в разделе «Анализ почв» (с. 69 – 71).

Определение гидролитической кислотности

Ионы водорода, обусловливающие гидролитическую кислотность торфа, принято вытеснять 1 н. раствором ацетата кальция (с pH 7,4) или ацетата натрия (с pH 8,2). Соотношение торф : раствор = 1 : 300.

Ход анализа

1,5 г воздушно-сухого торфа из тщательно отобранной, измельченной и просеянной через сито с ячейками в 0,25 – 1 мм средней пробы отвешивают на технических весах, переносят без потерь в колбу емкостью 1 л и наливают в нее 450 $см^3$ 1 н. раствора ацетата кальция или натрия. Закрыв колбу пробкой, взбалтывают содержимое сначала от руки (для лучшего смачивания торфа), а затем в течение 1 ч на ротаторе.

Полученную суспензию фильтруют через сухой складчатый фильтр в сухую колбу или стакан. Первые (мутные) порции фильтрата отбрасы-вают. Из фильтрата берут 100 $см^3$ совершенно прозрачного раствора и титруют на холоду 0,1 н. щелочью в присутствии фенолфталеина до слабого порозовения жидкости, не исчезающего в течение 1 мин.

Одновременно таким же образом титруют 100 $см^3$ исходного раствора ацетата, причем количество щелочи вычитают из результатов титрования фильтрата.

Расчет гидролитической кислотности торфа (*Нг*) проводят по формуле (в мэкв/100 г почвы) $Hг = \frac{(a-b)\,T \cdot 450}{10\,1,5}$,

где a – количество 0,1 н. NaOH на титрование образца, $см^3$; b – количество 0,1 н. NaOH на титрование контроля, $см^3$; T – поправка к титру 0,1 н. NaOH.

Реактивы

1 н. KCl и 1 н. CH_3COONa (приготовление см. в ПРИЛОЖЕНИИ). Раствор ацетата натрия (10 $см^3$) от 1-2 капель фенолфталеина должен окрашиваться в слабо-розовый цвет. Если раствор получается интенсивно-розовый, то прибавлением нескольких капель (по одной) 10%-м раствором уксусной кислоты его доводят до слабо-розового цвета, а затем это же количество (в пересчете на 1000 $см^3$) добавляют в склянку с приготовленным реактивом и вновь проверяют его реакцию (по шкале универсальной индикаторной бумаги или на pH-метре). Если же раствор после прибавления фенолфталеина остается бесцветным, то путем прибавления по каплям 10%-го раствора NaOH добиваются слабого его порозовения с последующим добавлением рассчитанного количества капель щелочи ко всему раствору ацетата в склянке; pH также проверяют по шкале Алямовского (pH 8,2) и в случае необходимости корректируют добавлением 10%-го раствора NaOH или 10%-й уксусной кислоты.

Определение содержания азота, фосфора и калия в торфах проводят после мокрого или сухого озоления (см. раздел «Анализ растений»).

Расчёт доз удобрений при внесении в почву, понятие о методах расчета

При разработке системы удобрений важным этапом является определение доз и соотношений минеральных удобрений, вносимых под основные сельскохозяйственные культуры в севооборотах, с учётом почвенно-климатических условий.

Определение доз удобрений проводится различными методами. Эти методы можно условно разделить на три группы.

1. Методы, основанные на прямом использовании результатов полевых опытов

Эти методы основаны на обобщении результатов исследований в полевых экспериментах различных научно-исследовательских учреждений. Их суть состоит в разработке рекомендаций по внесению примерных оптимальных доз минеральных удобрений под различные сельскохозяйственные культуры для основных почвенно-климатических зон (табл. 38).

38. Примерные нормы внесения удобрений на дерново-подзолистых почвах

Культура	Навоз, т/га	Минеральные удобрения, кг/га д.в.		
		N	P_2O_5	K_2O
Озимые зерновые: по занятым парам	20 – 30	100 – 120	80 – 100	40 – 60
Озимые зерновые: после клевера с тимофеевкой	–	70 – 100	100 – 120	100 – 120
Яровые зерновые	–	80 – 120	80 – 100	60 – 80
Лён долгунец по клеверищу	–	20 – 40	60 – 90	80 – 100
Картофель	30 – 40	100 – 120	80 – 100	100 – 120
Кукуруза и другие силосные	30 – 40	100 – 120	80 – 100	80 – 100
Кормовые корнеплоды	30 – 40	180 – 220	120 – 150	180 – 220

2. Расчётные методы

а) Расчёт доз удобрений на планируемую прибавку урожая.

б) Расчёт доз удобрений на планируемый урожай или метод элементарного баланса.

Расчёт доз удобрений этими методами проводят по выносу элементов питания заданным урожаем с учётом данных агрохимического анализа почвы и коэффициента использования элементов питания растениями из почвы и удобрений, минеральных и органических.

Однако значительная вариабельность исходных данных, применяемых в расчётах, а порой отсутствие некоторых из них для конкретных условий, затрудняет практическое использование этих методов. Кроме того, такой расчёт удобрений не учитывает некоторых факторов, влияющих на эффективность удобрений, прежде всего биологических возможностей растений поглощать питательные вещества почвы, причём, различных в разные периоды вегетации.

В связи с этим, рядом учёных (Е.Р. Боудис, В.В. Церлинг, Ю.И. Ермохин, И.И. Ельников и др.) предложены методы расчёта поправочных коэффициентов к дозам, рассчитанным только по анализам почв, основанных на растительной диагностике. Это позволяет в большей мере обеспечить сбалансированность элементов корневого питания растений (табл. 39).

39. Поправочные коэффициенты к нормам удобрений с учётом содержания подвижных форм фосфора и калия в почве

Содержание в почве питательных веществ по картограмме	Зерновые культуры, травы, лён, пропашные	Овощные культуры
Азотные удобрения		
P_2O_5 или K_2O		
очень низкое	1,2	–
низкое	1,1	1,2
среднее	1,0	1,1
повышенное	0,9	1,0
высокое	0,8	0,9
очень высокое	0,7	0,8
Фосфорные и калийные удобрения		
P_2O_5 или K_2O		
очень низкое	1,5	–
низкое	1,2 – 1,3	1,5
среднее	1,0	1,2 – 1,3
повышенное	0,7 – 0,8	1,0
высокое	0,4 – 0,6	0,7 – 0,8
очень высокое	0,1 – 0,3	0,4 – 0,6

3. Комплексные методы определения доз удобрений

Методы основаны на выражении урожая как функции действия отдельных факторов. Наибольшее распространение из этих методов получили эмпирические, суть которых состоит в том, что дозы удобрений определяют по уравнениям множественных регрессий, полученных на основе математической обработки данных факториальных опытов или данных географической сети опытов с удобрениями. Эти методы требуют применения современной вычислительной техники.

Определение доз удобрений расчётными методами

1. Расчёт доз удобрений на планируемую прибавку урожая

Этот метод учитывает уровень плодородия почвы косвенным образом – по величине урожая данной культуры без применения удобрений или исходного урожая. $D\ [кг/га] = \frac{100 \cdot (Y - A) \cdot B}{Ko}$, (1)

где: D – доза удобрения кг/га д.в. (N, P_2O_5 или K_2O); Ko – коэффициент использования элемента из удобрения,%; Y – планируемый урожай, ц/га; A – исходный урожай, ц/га; B – вынос питательного элемента с единицей урожая (с 1 ц товарной продукции с учётом побочной), кг/га (см. табл. 40)

40. Количество N, P_2O_5, K_2O, необходимое для формирования 1 ц товарной части урожая (с учётом побочной продукции), кг/ц

Культура	N	P_2O_5	K_2O
Озимая пшеница	3	1,2	2,5-3,0
Озимая рожь	2,5	1,2	3,0
Яровая пшеница	3,5	1,3	2,5
Ячмень	2,6	1,0	2,6
Овёс	3,0	1,4	3,5
Картофель	0,5	0,2	1,0
Овощи	0,4	0,15	0,5
Лён-долгунец (соломка)	8,0	2,6	9,5
Кормовые корнеплоды	0,5	0,2	0,7
Кукуруза на силос	0,25	0,1	0,4
Силосные культуры (без кукурузы)	0,3	0,12	0,6
Однолетние травы на зелёный корм	0,6	0,11	0,32
на сено	2,0	0,5	2,0
Естественные сенокосы			
на сено	1,7	0,7	1,8
на зелёный корм	0,5	0,23	0,6
Пастбища			
зелёная масса	0,34	0,14	0,36

Если в почву предварительно внесли органические удобрения, то формула расчёта дозы удобрений приобретает следующий вид:

$$D\ [кг/га] = \frac{100 \cdot (Y - A) \cdot B}{Ko} - O, \qquad (1a)$$

где O – количество элемента, используемого из органических удобрений, кг/га: $O = E \cdot g \cdot Ke/100$, где: E – доза органического удобрения, т/га;

g – содержание элемента в органических удобрениях; Ke – коэффициент использования этого элемента из органических удобрений, %; 100 – пересчет в проценты.

Для учёта уровня обеспеченности почвы тем или иным элементом вводят коэффициент – α.

$$D\ [кг/га] = \frac{100 \cdot \alpha \cdot (Y - A) \cdot B}{Ko} \quad \text{или}$$

$$D\ [кг/га] = \frac{100 \cdot \alpha \cdot (Y - A) \cdot B}{Ko} - O, \qquad (1б)$$

α находят по агрохимическим справочникам.

Например: доза фосфорных удобрений, рассчитанная по формулам 1 и 1а при очень низком содержании доступного фосфора умножается на 1,5, а при очень высоком – на 0,2 (см. табл. 39).

2. Расчёт дозы удобрений на планируемый урожай с учётом обеспеченности почвы питательными веществами

$$D\ [кг/га] = \frac{100 \cdot Y \cdot B - C \cdot Kn}{Ko},$$

где Y – планируемый урожай, ц/га; B – вынос питательного элемента с ед. урожая, кг на 1 ц урожая; Kn – коэффициент использования питательного элемента из почвы данной культурой; Ko – коэффициент использования из минеральных удобрений;

Запас питательных веществ в почве рассчитывается по формуле:

$$C = P \cdot M \cdot h \cdot S$$

где: P – содержание подвижных форм питательных элементов в почве, мг/100 г почвы; M – объёмная масса почвы, г/см^3; h – толщина слоя почвы, см; $S = 1$ га $= 1 \cdot 10^8$ см^2 – площадь.

Если в почву предварительно внесли органические удобрения, то формула приобретает следующий вид:

$$D\ [кг/га] = \frac{100 \cdot Y \cdot B - (C \cdot Ke + O)}{Ko}, \qquad (2а)$$

Примечания

1. Запас доступного азота в почве определяется по суммарному содержанию азота нитратов и азота аммиака: $C = (N\text{-}NO_3^- + N\text{-}NH_4^+) \cdot M \cdot h \cdot S$

2. Для установления дозы удобрения в физическом весе необходимо провести расчёт с учётом содержания процента действующего вещества в удобрении:

$$D_ф\ [кг/га] = \frac{D \cdot 100}{K_ф},$$

где $K_ф$ – содержание действующего вещества в применяемом удобрении, %; $D_ф$ – доза удобрения в физическом весе, кг/га.

41. Пример расчёта доз удобрений на планируемый урожай зерна озимой пшеницы 60 ц/га

	N	P_2O_5	K_2O
1. Для формирования 1 ц основной продукции (с учётом побочной) требуется, кг/га	3	1,2	3
2. Для получения планируемого урожая требуется, кг/га	180	72	180
3. Содержание в почве, мг/100 г	7	10	8
4. Содержание в пахотном слое почвы, кг/га	175	250	200
5. Будет использовано из почвы, %	20	10	25
кг/га	35	25	50
6. Было внесено под предшествующую культуру минеральных удобрений /д.в./, кг/га	100	40	20
7. Будет использовано за счёт последействия, %	5	10	20
в кг/га	5	4	4
8. Планируется внести с 40т навоза, кг/га	200	100	240
9. Будет использовано из навоза, %	25	20	30
кг/га	50	20	75
10. Итого будет использовано из почвы и навоза, кг/га	90	49	126
11. Требуется дополнительно внести с минеральными удобрениями, кг/га д.в.	90	23	54
12. Коэффициент использования из минеральных удобрений, %	60	20	60
13. Требуется внести минеральных удобрений, д.в. кг/га	150	115	90
14. Содержание питательных веществ /д.в./ в конкретном виде удобрения, %	–	–	–
15. Требуется внести минеральных удобрений, физический вес, кг	–	–	–

♦ Значения в кг/га рассчитываются исполнителем и вводятся в таблицу.

Раздел V

АГРОХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

МЕТОДИКА ПОЛЕВОГО ОПЫТА

Полевой опыт – это метод исследования, проводимого в природной полевой обстановке на специально выделенном участке с целью установления количественного воздействия условий или приемов возделывания на урожай сельскохозяйственных растений и его качество.

Полевой опыт дает количественную, приложимую к производственным условиям характеристику эффективности действия удобрения. Поэтому он справедливо рассматривается как конечное звено в системе агрохимических исследований.

В зависимости от цели, места постановки, длительности опыта и размера делянок полевой опыт делится на несколько видов.

В зависимости от длительности периода наблюдений за действием удобрений различают однолетние и многолетние, или длительные, полевые опыты. В однолетних опытах учитывается действие удобрения только на ту культуру, под которую оно внесено. Многолетние опыты, как правило, ведутся в определенном севообороте. Опыт, закладываемый в течение нескольких лет каждый год на новом участке, но учитываемый на каждом участке только один раз, нужно считать все же однолетним опытом. Опыт, учитываемый в течение ряда лет на одном участке, лишь при чередовании на нем культур должен считаться многолетним, хотя и неудовлетворительно организованным с точки зрения методики.

В зависимости от размера делянки различаются крупноделяночные и мелкоделяночные опыты. Существенной для этого подразделения является, однако, не величина делянок, а возможность применения нормальной полевой агротехники. Мы относим к мелкоделяночным опыты с таким малым размером делянок, который не позволяет поставить изучаемый фактор в условия нормальной сопутствующей агротехники и заставляет прибегать к искусственным приемам, которые могут существенно изменить высоту урожая и эффективность изучаемого фактора. Все опыты, проводимые с соблюдением нормальных приемов полевой агротехники, мы относим к обычным, или нормальным, полевым опытам независимо от абсолютных размеров делянки.

В зависимости от количества изучаемых факторов полевые опыты подразделяют на *однофакторные* и *многофакторные*. Если в опыте изучается один простой или сложный (составной) количественный фактор в нескольких градациях (дозы удобрения, пестицида, нормы

посева, полива и т.п.) или сравнительное действие ряда качественных факторов (разные культуры, сорта, способы обработки, предшественники и т.п.), то такой эксперимент называется простым, или *однофакторным.*

Опыты, в которых одновременно изучается действие и устанавливается характер и величина взаимодействия двух и более факторов, называются *многофакторными.* Установить величину и характер взаимодействия позволяют лишь те полевые опыты, которые спланированы по схеме полного факториального эксперимента (ПФЭ), которая предусматривает наличие всех возможных сочетаний изучаемых факторов и их градаций (доз). Многофакторный эксперимент по полной факториальной схеме, в котором изучаются два фактора в двух градациях ($2 \times 2 = 4$), например глубокая обработка почвы и удобрение, должен иметь 4 варианта:

1. Обычная обработка без удобрений (контроль).
2. Глубокая обработка без удобрений.
3. Обычная обработка + удобрение.
4. Глубокая обработка + удобрение.

При исключении из этого опыта любого второстепенного, по мнению исследователя, варианта схема становится неполной, нефакториальной.

***Основные понятия**, встречающиеся в методике полевого опыта*

Схема полевого опыта – совокупность определенного числа вариантов. Каждый из них характеризуется видоизменением того фактора, который изучается в данном опыте. Примером простейшей схемы опыта может быть схема их двух вариантов, например первый вариант – без удобрений, второй – с удобрением. Для изучения действия трех видов минеральных удобрений обычно рекомендуют классическую схему, так называемую восьмерную, предложенную французским ученым Жоржем Виллем: 1) 0; 2) N; 3) P; 4) K; 5) NP; 6) NK; 7) PK; 8) NPK. В ней наиболее полно сочетаются все возможные комбинации из трех видов удобрений, но эту схему можно трактовать и гораздо шире. Вместо трех видов минеральных удобрений по этому принципу можно построить схему, включающую изучение любых трех факторов, например глубокой вспашки, удобрения и полива. Поскольку чаще всего в практике применяется сразу несколько удобрений, используется пятерная схема: 1) 0; 2) NP; 3) NK; 4) PK; 5) NPK. Эта схема называется схемой Вагнера, в ней действие любого вида удобрений испытывается только на фоне двух других.

Вариант опыта – определенная совокупность приемов возделывания растений, осуществляемая на одной делянке или на нескольких, так называемых повторных делянках. Вариант есть составная часть схемы опыта, обозначаемая тем фактором, который изучается в опыте. Один из вариантов схемы опыта, с которым сравнивают результаты, полученные в

других вариантах, называется *контрольным* (стандартным) или *контролем*. Он позволяет определить степень чувствительности растений к изучаемому в опыте фактору. Варианты опыта размещаются на делянках опытного участка по определенному плану.

Опытная делянка – элементарная составная часть опытного участка определенного размера и формы, на которой осуществляются все изучаемые приемы возделывания растений согласно какому-нибудь одному из вариантов схемы опыта.

Каждый из вариантов схемы принято размещать повторно на нескольких делянках, отсюда возникает понятие «повторность».

Повторностью опыта в пространстве называют число одноименных делянок каждого варианта. Часть площади опытного участка, занятую полным набором делянок всех вариантов схемы опыта, расположенных рядом друг с другом, называют повторением опыта.

Блок – часть площади участка полевого опыта, поделенного на делянки, на котором размещают варианты схемы опыта случайными методами. Блок может быть полным, тогда он равнозначен повторению, или неполным – когда в блок входит лишь часть вариантов, в последнем случае несколько блоков составляют одно повторение.

Основные методические требования к качеству полевого опыта

К любому полевому опыту предъявляется ряд основных методических требований: 1) наличие сравнимости и соблюдение принципа единственного различия; 2) типичность опыта; 3) точность количественных результатов опыта; 4) достоверность.

Наличие сравнимости и соблюдение принципа единственного различия – одно из требований методики полевого опыта, которое следует учитывать при разработке программы и построении схемы полевого опыта. Программа и схемы должны быть составлены так, чтобы на основании сравнения урожаев и наблюдений за развитием растений на делянках различных вариантов можно было сделать определенный вывод, получить ответ на поставленный вопрос, имеющий практическое значение для сельскохозяйственного производства.

Одним из условий методически правильно поставленного опыта является соблюдение принципа единственного логического различия, т.е. требования, чтобы сравниваемые варианты различались одним изучаемым в опыте фактором. Другие факторы, оказывающие влияние на урожай, у сравниваемых вариантов должны быть одинаковыми. Так, при изучении действий удобрений необходимо, чтобы обработка почвы на всех делянках опыта была одинаковой, посев проведен в один срок семенным материалом одинакового качества, чтобы на всех делянках применялась одна и та же система ухода за растениями и т.д. Цель этого требования – обеспечить сравнимость данных, полученных в разных вариантах опыта, например для суждения об эффективности удобрений.

В опытах с удобрениями соблюдение принципа единственного различия требует не только чтобы все остальные факторы жизни растений и приемы агротехники были одинаковыми, но и чтобы разные формы удобрений испытывались при одинаковых дозах, эффективность различных доз какого-либо удобрения изучалась в одной и той же форме.

Требование *типичности*, или, как иногда говорят, репрезентативности, *опыта* включает соответствие условий проведения опыта той окружающей обстановке, где предполагается использовать его результаты. Различают типичность опыта в отношении природных, а также организационно-хозяйственных, агротехнических условий. Требование природной типичности заключается в соответствии условий проведения опыта почвенным и климатическим условиям района или хозяйства, для которого предназначаются результаты опыта.

В опытах с удобрениями надо особенно тщательно выбирать соответствующий фон, от которого зависит эффективность удобрений. Иногда следует создавать два или несколько фонов (без навоза и с навозом, без известкования и по фону извести и т.д.). В понятие типичности входит также пригодность фона для исследования того или иного вопроса. Неверным и нетипичным будет изучение эффективности фосфоритной муки на почве, незадолго до этого произвесткованной.

Большое значение имеет закладка опыта по лучшим и типичным для данной культуры предшественникам (пласт для льна и яровой пшеницы, пары чистые или занятые для озимых и т.д.). Не менее важную роль в отношении типичности для опытов с удобрениями играет выбор типичных для данной зоны (района) культур, а также районированных сортов.

Точность количественных результатов – обязательное требование к качеству полевого опыта. Результат его всегда выражается количественно и служит объективным показателем эффективности изучаемого в опыте приема или фактора. Большинство агротехнических приемов и факторов, кроме влияния на величину урожая, оказывает также определенное действие на его качество (например, содержание белка в зерне, крахмала в клубнях картофеля, сахара в сахарной свекле). Оно может быть установлено химическим анализом урожаев с разных вариантов и сравнением полученных результатов, как и при определении различий в величине урожаев.

Наиболее существенная причина ошибок в полевом опыте – невыравненность исходного почвенного плодородия опытного участка, которая обусловлена пестротой в распределении почвенных разновидностей, влиянием рельефа и микрорельефа участка, а также неодинаковой предшествующей историей участка (обработка, удобрение, посев разных сельскохозяйственных культур).

Выбор формы и величины делянок, их расположения, а также необходимой в опыте повторности направлен главным образом на максимальное снижение ошибки, обусловленной исходной пестротой в почвенном плодородии опытного участка.

Полевой опыт должен также отвечать требованиям *достоверности*. Достоверность и точность опыта – понятия, тесно связанные между собой, но не идентичные. Принято различать достоверность полевого опыта по существу, т.е. соответствие опыта поставленным задачам исследования. Кроме того, различают понятие достоверности, или существенности, результатов полевого опыта.

Для оценки достоверности полевого опыта по существу проводят агрономический анализ его материалов, т.е. критический разбор и проверку правильности схемы полевого опыта, данных сопутствующих наблюдений и исследований, результатов учета урожая. Проверяют соответствие методики опыта задачам исследования, тщательно анализируют методику и технику проведения полевого опыта.

Если полевой опыт проведен методически и технически доброкачественно и нет оснований для выбраковки полученных в нем данных, результаты его подвергают математической обработке для установления величины случайной ошибки и степени точности, а также достоверности, или существенности, полученных результатов. Под существенностью результатов понимают математическую (статистическую) доказанность получаемой в опыте разницы в урожаях сравниваемых между собой вариантов опыта. Статистическая обработка результатов полевого опыта позволяет определить границы возможных случайных отклонений полученных данных и установить наличие существенных различий между средними урожаями по вариантам опыта.

Выбор участка

Рельеф. Наличие ровной поверхности – одно из основных условий пригодности участка для опыта. При постановке опытов на склоне делянки, расположенные в различных частях склона, попадают в неодинаковые почвенные условия и условия увлажнения. При значительном склоне возможен, кроме того, смыв почвы и внесенных удобрений с верхних делянок на нижние. Особенно недопустима постановка многолетних опытов с озимыми на склонах, подвергающихся действию весенних вод. Однако выбор идеально плоского горизонтального участка сколько-нибудь значительной площади возможен лишь в условиях степи. В северной части России наличие той или иной степени склона типично для очень значительной части пахотных площадей. Идеально ровная поверхность встречается здесь почти исключительно на осушенных болотах. Поэтому не только трудность выбора участка, не имеющего склона, но и соображения типичности заставляют допускать здесь наличие на опытном участке умеренного склона (2,5 м падения на 100 по-

гонных метров). Однако этот склон должен быть односторонним и равномерным. Недопустимо расположение в пределах участка опыта склонов, обращенных к различным странам света, резких изменений крутизны склона и особенно наличие замкнутых понижений (западин, блюдец).

При расположении опытного участка на склоне делянки вытягиваются длинными сторонами вдоль склона, с тем чтобы каждая делянка по возможности полно и одинаково с другими охватывала разнообразие условий в разных частях склона. Эти требования к рельефу не относятся, конечно, к тем случаям, когда влияние рельефа само собой является предметом изучения в опыте (опыты по изучению влияния склонов различной крутизны и экспозиции, опыты по изучению влияния эрозии и т.п.).

Почва. Почвенное обследование опытного участка может иметь двоякую задачу: а) дать почвенную характеристику участка в целом для того, чтобы сделать возможным перенесение результатов опыта на сходные почвы; б) помочь наилучшим образом расположить опыт, расположив его целиком в пределах одной почвенной разности или при невозможности этого, в пределах комплекса наиболее близких разностей при условии возможного однообразия этого комплекса для всех вариантов опыта.

Первая задача обязательна не только в условиях опытного поля, но и при постановке опытов в условиях производства. Результаты тщательнейшим образом проведенного опыта теряют ценность, если неизвестна почва, на которой он был поставлен.

Детализация почвенной карты, необходимая для разрешения второй задачи, зависит от пестроты почвенного покрова и размера делянок, но во всяком случае должна быть очень велика. Ошибки в нанесении почвенных разностей на такой карте не должны превышать наименьшего измерения (т.е. ширины) делянок, что требует почвенного обследования в масштабе 10 – 50 м в 1 см, осуществимого обычно лишь в опытных полях.

При необходимости закладки опыта на комплексе хотя бы и близких почв следует так расположить делянки (вытянутой формы), чтобы каждая из них охватывала весь комплекс почвенных разностей, представленных в пределах размещения опыта.

Предшествующая история. Севооборот, система обработки и особенно степень предшествующей заправки навозом и минеральными удобрениями определяют типичность опытного участка для обслуживаемого района в не меньшей степени, чем природные условия. Большое значение имеет предшествующая история также и в отношении однородности опытного участка.

Наибольшее значение имеет неоднородность предшествующей истории при постановке опытов в производственных условиях, где выбор участка обычно непосредственно предшествует закладке опыта и участок не подвергается никакой специальной подготовке. В этих условиях непременным требованием к участку является однородность обработки, удобрения и предшествующих культур по крайней мере за 2 – 3 года, а еще лучше – за последнюю ротацию севооборота. Важную роль для неоднородности и типичности участка играет строгая однообразность в проведении таких приемов агротехники, которые резко изменяют плодородие почвы и обладают длительным и значительным последействием. К ним относятся: известкование и гипсование; заправка почвы навозом; применение повышенных доз минеральных удобрений, особенно фосфорных; посевы многолетних бобовых трав; углубление пахотного слоя.

Последействие всех этих приемов, конечно, рано или поздно затухает. Однако длительность этого последействия во всяком случае превышает 2 – 3 года, а в некоторых случаях (например, при известковании) может растягиваться на десятилетия. Поэтому при наличии сведений о применении одного из этих приемов на какой-то части участка нельзя использовать его под закладку опыта без предварительного дробного учета, хотя бы со времени применения этого приема и прошло более 2 лет.

При изучении истории участка следует также обращать внимание на *случайные факторы*, которые сильно нарушают его однородность и снижают точность результатов будущего опыта. На участке не должно быть следов земляных работ, засыпанных ям и канав, раскорчевок и крупных пней, остатков от строений, бывших токов, стоянок скота, мест вывозки и хранения навоза, бывших грунтовых дорог. Не следует располагать опытный участок вблизи водоемов, древесных насаждений, построек, изгородей, которые создают неравномерность освещения вследствие затенения, неодинаковые условия влажности почвы и воздуха ветра, а также возможности повреждения и засорения опыта.

Участок должен находиться на расстоянии не менее 200 м от водоемов, 40 – 50 м от сплошного леса и отдельных построек, 25 – 30 м от отдельных деревьев и 10 м от плотных изгородей. Во избежание повреждения опыта и влияния на него дорожной пыли участок размещают на расстоянии 10 – 20 м от проезжей дороги и изолируют засеянной защитной полосой.

Подготовка участка

Подготовка участка включает две самостоятельные задачи: выравнивание неодинакового плодородия участка при помощи одного или нескольких сплошных по всему участку, так называемых уравнительных посевов и изучение распределения на площади участка исходной

пестроты почвенного плодородия путем дробного учета рекогносцировочных или разведочных посевов.

Уравнительные посевы. Кроме выравнивания пестроты участка, уравнительные посевы могут иметь еще одну важную, но обычно забываемую задачу – доведение плодородия и окультуренности участка до заданного уровня. При исключительном значении, придаваемом в опытах с удобрениями фону, на котором они проводятся, очень часто возникает необходимость искусственного создания или изменения этого фона как в сторону повышения окультуренности, так иногда и в сторону некоторого понижения исходного плодородия.

Для достижения этих целей подготовительные посевы, являющиеся в то же время и уравнительными, могут продолжаться несколько лет и включать самые разнообразные культуры. Возможно создание специальных подготовительных севооборотов или звеньев севооборота. В этих севооборотах могут вноситься в зависимости от исходного и создаваемого уровня плодородия навоз или минеральные удобрения или, наоборот, севообороты могут проводиться в течение ряда лет без всякого удобрения.

Систематический и тщательный осмотр уравнительных посевов дает возможность провести глазомерную оценку пестроты в развитии растений, выделить для опыта наиболее выровненную часть опытного участка и исключить из него те места, которые отличаются большой пестротой. В некоторых случаях, когда этого требуют условия проведения опыта, последний уравнительный посев можно совместить с рекогносцировочным, подвергнув его дробному учету.

Некоторые случаи специальной подготовки участка. Помимо перечисленных общих приемов подготовки участков для опыта, возможны некоторые специальные приемы подготовки, связанные с задачами опыта или с особенностями самого участка. Так, в опытах с орошаемыми культурами необходимым приемом является планировка участка, обеспечивающая равномерность орошения делянок и возможность тщательной регулировки и учета распределения воды между делянками.

Так как планировка, т.е. снятие части пахотного слоя в одних местах и подсыпка в других, сама по себе служит источником пестроты плодородия, особенно в первые годы после ее осуществления, то дополнительным требованием при выборе участка для опытов с орошаемыми культурами является рельеф, позволяющий ограничиться минимальной планировкой.

Рекогносцировочные посевы и дробный учет. Сущность дробного учета заключается в том, что участок засевается сплошь какой-либо культурой, которая учитывается по отдельным, возможно, более мелким,

площадкам. Таким образом, устанавливается пестрота плодородия внутри опытного участка.

Для рекогносцировочного посева чаще всего используют зерновые хлеба, иногда картофель или корнеплоды. Из зерновых удобнее для дробного учета яровые культуры (овес), так как на пестроту стояния озимых накладываются, помимо плодородия почвы, условия перезимовки.

Величина элементарных делянок дробного учета зависит от культуры. При небольших площадях, подлежащих учету, и значительной пестроте участка можно рекомендовать размер элементарной делянки в 10 м^2. При более крупных и более однородных площадях можно допустить и более крупные делянки дробного учета.

Использование данных дробного учета может идти по нескольким путям. Прежде всего, непосредственные результаты взвешивания наносят на план. Для этого весь цифровой материал разбивают на группы с интервалами 0,5 – 1,0 кг и для каждой группы подбирают определенную интенсивность окраски (обычно более темную с повышением урожая), которой и закрашивают на плане каждую ячейку, соответствующую элементарной делянке. Такой план позволяет довольно хорошо ориентироваться в характере пестроты участка и выделить в его пределах более однородные площадки и, наоборот, выключить резко отличающиеся пятна.

Насколько сильно понижается ошибка при правильном разделении неоднородного участка на отдельные более однородные части – показывает следующий пример из материалов Долгопрудненской агрохимической опытной станции.

На основании данных дробного учета для одного из участков опытного поля была вычислена процентная ошибка элементарных делянок (10 м^2) при четырехкратной повторности (m_4, %). Она оказалась равной 18%, т.е. была очень высока. После того как участок на основании нанесенных на план данных дробного учета был разделен на две самостоятельные части, ошибки, вычисленные для каждой из этих частей в отдельности, составили 8,3 и 11,3%, т.е. были уже более или менее приемлемыми.

Следующая стадия работы заключается в чисто эмпирическом комбинировании элементарных делянок по две, три и т.д. и суммировании их урожаев с тем, чтобы подобрать размер и форму опытной делянки, при которых в наибольшей степени погашалась бы пестрота элементарных делянок.

Одновременно производят математическую обработку материала, устанавливающую среднюю квадратическую ошибку для элементарной делянки и для комбинированных делянок разной величины.

Исходя из того, что средняя ошибка m прямо пропорциональна величине квадратического отклонения δ и обратно пропорциональна корню квадратному из числа повторений n:

$$m=\frac{\delta}{\sqrt{n}},$$

вычисляют число повторений, необходимое для того, чтобы ошибка опыта при данном размере делянок не превосходила заданной величины:

$$n=\left(\frac{\delta}{m}\right)^2.$$

Все эти предварительные вычисления позволяют при минимальной затрате площади заложить опыт с заранее определенной точностью.

Размещение опыта на участке

Основной задачей размещения опыта на участке является возможное уменьшение различий в исходном плодородии сравниваемых делянок, вызванное пестротой участка.

Величина делянки. Повышение точности опыта (уменьшение ошибки) с увеличением площади делянки идет не пропорционально этому увеличению, а постепенно затухая. За известным пределом увеличение площади делянки может привести к понижению точности.

Дело в том, что увеличение площади каждой делянки означает и увеличение площади, занимаемой опытом в целом. До тех пор, пока весь опыт остается в пределах однородной площадки, одного пятна пестроты второго порядка, точность опыта с увеличением площади делянки повышается. Но как только общая площадь опыта выходит за пределы однородной площадки, точность его резко падает. Таким образом, максимальный размер делянки ограничивается необходимостью уложить весь опыт в пределах однородной площадки второго порядка.

На основе многолетней практики опытных учреждений рекомендовать можно средние размеры делянок 50 – 100 м^2 для растений сплошного посева и 100 – 200 м^2 для пропашных культур. От этих величин могут быть отклонения. В опытах с раздельной обработкой и посевом каждой делянки, с техникой внесения удобрений площадь делянки увеличивается до 300 м^2, иногда и больше. В многолетних опытах рекомендуются делянки от 200 до 300 м^2. В лабораторно-полевых опытах, где соблюдение типичности в производственном отношении необязательно, при применении конной обработки для культур сплошного посева размер делянки может быть 20 – 25 м^2, а при ручной обработке и еще меньшим.

Отсутствие специальных малогабаритных машин и орудий заставляет увеличивать делянки, что нежелательно, так как снижается качество работы. Указанные выше размеры примерные, они требуют уточнения в каждом отдельном случае.

Форма делянки. Точность опыта может быть также повышена в результате правильного выбора формы делянки. Наилучшую для данного участка форму делянки можно определить непосредственно, комбинируя данные дробного (участка) учета.

Вытянутая форма делянки обеспечивает обычно большую точность опыта, так как чем длиннее делянка, тем полнее она охватывает пестроту участка. Особенно необходимы вытянутые делянки при наличии явно выраженного изменения плодородия участка в каком-либо одном направлении.

Недостаток делянок вытянутой формы. У которых соотношение длины к ширине более 10 – их большой периметр. Чем он больше, тем сильнее сказывается влияние края и соседей на результаты; отсюда возникает необходимость обязательного введения защитных полос. Площадь их значительно больше на узких длинных делянках, поэтому при ограниченной площади участка и малых размерах делянок (меньше 50 $м^2$) им следует придавать форму, близкую к квадрату, а повышения точности опыта добиваться увеличением повторности.

Повторность. Наиболее действенным способом повышения точности опыта является введение нескольких повторных делянок для каждого варианта схемы. Повторные делянки можно рассматривать как части одной более крупной делянки, но размещенные в различных местах опытного участка.

Наличие нескольких параллельных делянок для каждого варианта опыта не только повышает его точность, но и дает возможность количественно определить эту точность (вычислить величину ошибки). Повторность одноименных делянок нужно считать обязательной для всякого полевого опыта.

В стационарных условиях, как правило, полевые опыты не закладывают с повторностью меньше чем четырехкратная. Большинство полевых опытов при размерах делянок 50 – 100 $м^2$, а иногда и больше ставят в четырехкратной, реже в шестикратной повторности; это дает возможность иметь точность опыта около 2 – 4%. При постановке опытов на делянках 20 – 10 $м^2$ повторность повышают до 6 – 8-кратной. Минимальная повторность двухкратная. Ее недостатком, даже когда она обеспечивает необходимую точность опыта, является риск выпадения одной делянки по случайным причинам, что ведет к выбраковке из опыта всего варианта.

Общее расположение опыта. В полевых опытах с удобрениями чаще всего все повторения располагают компактно на одном участке, имея общие границы между отдельными повторениями. Такое расположение повторений носит название *сплошного*. При сплошном расположении повторения опыта могут быть размещены на участке в один, два и несколько рядов (рис. 32).

Систематическое расположение вариантов на делянках внутри повторений, при котором предусматривается возможно равномерное размещение одноименных вариантов по всему опытному участку, предполагает расположение вариантов в определенном, заранее установленном экспериментальном порядке. При однорядном размещении повторений наиболее распространено последовательное расположение вариантов, при котором установленный порядок размещения вариантов на делянках первого повторения далее в неизмененном виде повторяется во всех остальных повторениях.

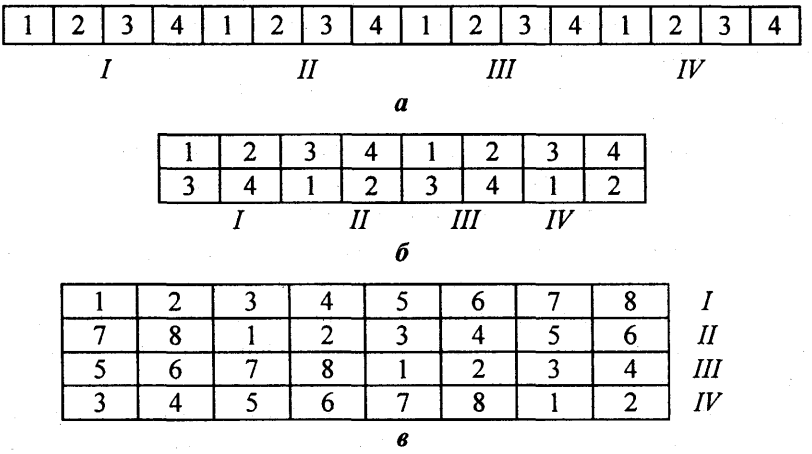


Рис. 32. Схемы систематического расположения вариантов и повторений в опыте:
***а** – однорядное последовательное; **б** – двухрядное; **в** – многорядное ступенчатое расположение. **1 – 8** – номера вариантов. **I – IV** – повторения.*

При двух- и многорядном расположении повторений на делянках варианты чаще всего размещают ступенчато; они идут в одном направлении, но в каждом следующем ряду начало схемы сдвигается на одну, две или больше делянок, а конец ее переносится в начало ряда. Такое расположение опыта иногда называют *шахматным*.

При многорядном расположении повторений могут быть и другие методы размещения вариантов. Однако при любых способах расположения повторений и вариантов нельзя допускать территориального сближения одноименных делянок, т.е. помещать их рядом как в вертикальном, так и в горизонтальном направлении. Следует стремиться одноименные делянки максимально удалять друг от друга, а при многорядном расположении повторений делянки каждого ряда в вертикальных столбцах помещать однократно. При неизбежности повторного размещения делянок одного варианта в одной вертикали необходимо располагать между ними по крайней мере две делянки других вариантов.

При регулярном изменении плодородия почвы недостатком последовательного систематического размещения вариантов является вероятность накопления систематических ошибок, так как всегда возможно, что система изменения плодородия будет коррелировать с системой расположения вариантов. При этом одни варианты будут находиться внутри повторения на делянках, расположенных рядом или близко, а другие – на делянках, удаленных одна от другой, что приводит к неравноточным сравнениям вариантов друг с другом и с контролем.

При многорядном расположении повторений и ступенчатом расположении вариантов внутри повторений неравноточность сравнения вариантов сглаживается, так как систематическое изменение плодородия внутри отдельных повторений опыта не будет коррелировать с системой расположения вариантов.

Случайное или *рендомизированное* (от англ. rendom – случайный, беспорядочный) расположение вариантов на делянках предложено Р.А. Фишером. Оно заключается в случайном (рендомизированном) размещении вариантов на делянках каждого повторения путем жребия или же по специально составленным таблицам случайных чисел. Этот способ основан на том, что все методы вариационной статистики приложимы в полной мере только к случайным явлениям, и поэтому статистическая обработка результатов опыта наиболее обоснованно применима при случайном расположении вариантов в пространстве.

При рендомизации значительно меньше возможностей корреляции между изучаемыми в опыте вариантами, что делает более равноточными их попарные сравнения. При систематическом изменении плодородия почвы рендомизация уравновешивает его влияние внутри каждого повторения и тем самым предотвращает накопление систематических ошибок, превращая их в случайные.

Среди случайных методов размещения вариантов наибольшее распространение получил метод случайных блоков (повторений) и метод латинского квадрата.

Метод случайных блоков (повторений) – наиболее простой способ размещения вариантов. Их объединяют в несколько блоков, число делянок в каждом повторении равно числу вариантов схемы. Общее количество блоков определяется принятой в опыте повторностью. В блоке варианты по делянкам располагают в случайном порядке по жребию. В пределах каждого блока почвенные условия должны быть по возможности однородными. Форму блоков желательно иметь близкую к квадрату, чтобы улучшить сравнимость вариантов при любом размещении делянок в пространстве.

Форма делянок может быть удлиненная, укороченная и квадратная. Блоки на опытном участке располагают компактно в один, два или несколько ярусов, реже их размещают разбросанно, поодиночке или

группами. Делянки внутри блоков также располагают в один, два или несколько рядов, иногда блокам придают ступенчатую форму.

Метод случайных блоков (повторений) называют также рендомизацией с одним ограничением. Он состоит в том, что в каждом блоке (повторении) должен быть полный набор вариантов схемы, и рендомизация здесь осуществляется в пределах каждого блока (повторения), а не на всем опытном участке.

Примеры рендомизированного расположения блоков (повторений) приведены на рис. 33. При постановке опытов методом случайных блоков не исключена возможность того, что по жребию одноименные варианты будут размещены рядом. В этом случае для более равномерного распределения вариантов на опытном участке допустимо введение еще одного ограничения, по которому одноименные делянки не должны примыкать к друг другу ни в горизонтальном, ни в вертикальном направлении.

4	2	1	3	1	4	3	2	4	3	1	2	3	1	2	4	2	3	4	1	4	2	3	1

3	2	1	4	1	3	4	2	4	1	3	2
2	1	4	3	4	2	1	3	1	2	4	3

3	1	2	4	2	3	4	1
1	2	4	3	4	1	2	3
4	3	1	2	3	2	1	4

Рис. 33. Схемы размещения вариантов методом случайных блоков (повторений).

A	B	C	D	E	F
B	C	D	E	F	A
C	D	E	F	A	B
D	E	F	A	B	C
E	F	A	B	C	D
F	A	B	C	D	E

а

C	E	B	A	D	F
B	F	E	D	A	C
A	D	F	C	B	E
F	B	D	E	C	A
D	A	C	F	E	B
E	C	A	B	F	D

б

Рис. 34. Схемы расположения вариантов методом латинского квадрата:
***а** – систематическое; **б** – рендомизированное.*

Метод латинского квадрата состоит в том, что число повторений *(n)* в опыте равно числу вариантов, а общее число делянок равно n^2. Варианты на плане обозначают буквами латинского алфавита. При размещении опыта методом латинского квадрата опытный участок квадратной или прямоугольной формы разбивают на горизонтальные и вертикальные ряды по числу вариантов. В горизонтальном и вертикальном рядах помещают полный набор всех вариантов; это возможно только тогда, когда одноименные делянки не повторяются дважды ни в горизонтальном, ни в вертикальном ряду. Внутри этих рядов варианты на делянках расположены по жребию; здесь мы имеем рендомизацию с двумя ограничениями. В пределах латинского квадрата возможно и систематическое ступенчатое размещение вариантов на делянках. Схемы расположения опыта по методу латинского квадрата приведены на рис. 34.

Расположение вариантов на делянках методом латинского квадрата очень удачное, так как оно позволяет при соответствующей математической обработке результатов опыта исключить влияние изменения плодородия почвы в двух взаимно перпендикулярных направлениях и снизить ошибку опыта.

Метод латинского квадрата используется при числе вариантов от 4 до 7. В случае увеличения количества вариантов потребовалась бы очень большая повторность в опыте. Чтобы сохранить возможность путем соответствующей математической обработки вычисления влияния систематического изменения плодородия почвы в двух взаимно перпендикулярных направлениях на точность опыта, не прибегая к очень большой повторности, варианты на делянках размещают по *методу латинского прямоугольника.* При этом методе число вариантов должно быть кратным числу повторностей. Частное от деления даст количество полос, на которое надо разделить каждый вертикальный ряд соответствующего латинского квадрата. Например, в опыте 8 вариантов при 4-кратной повторности. Разделив 8 на 4, получим 2. Находим, что каждый вертикальный ряд надо разбить на две полосы, и мы будем иметь полевой опыт, заложенный по методу латинского прямоугольника, по схеме $4 \times 4 \times 2$ (рис. 35).

8	5	1	3	6	4	2	7
6	3	7	4	5	2	8	1
1	4	6	2	8	7	5	3
2	7	8	5	1	3	4	6

Рис. 35. Размещение полевого опыта методом латинского прямоугольника по схеме 4 × 4 × 2.

В этой схеме первая цифра означает принятую в опыте повторность, произведение двух последних цифр – количество изучаемых вариантов, а всех трех цифр: 4 × 4 × 2 = 32 – число делянок в опыте. Существуют и другие методы расположения вариантов с использованием рендомизации.

Число и расположение контролей. Стандартные методы. В схеме опыта вариант, с которым сравнивают другие варианты, называют контрольным или контролем. В опытах с удобрениями им может быть делянка варианта без удобрений; она называется чистым контролем. Но в опытах по изучению действия удобрений (виды, формы, способы и сроки внесения) такой контроль не всегда обязателен. Чаще всего для сравнения действия какого-либо одного из трех основных питательных веществ (NPK) используется парная комбинация двух других элементов питания (фон); в этом случае фоновая делянка служит основным контролем. В опытах с новыми формами удобрений сравнение обычно ведут с делянкой, на которой размещен вариант с хорошо изученной формой удобрения (стандартное удобрение). При исследовании различных способов и сроков внесения удобрений за контроль принимают вариант с наиболее освоенными способами и сроками внесения удобрения.

В каждое повторение опыта может быть включена либо одна контрольная делянка, либо несколько. В первом случае общее число контрольных делянок равно числу делянок по любому другому варианту опыта, во втором число контролей повышенное и повторность их больше, чем повторность других вариантов опыта.

Введение в опыт повышенного по сравнению с другими вариантами числа контролей преследует цель – точнее охватить ими пестроту опытного участка и дать более надежный масштаб для сравнения всех других вариантов. Кроме того, повышенное число контролей позволяет оценить пестроту плодородия участка при отсутствии данных дробного учета.

Обычно один контроль должен приходиться внутри каждого повторения на 6 – 8 вариантов (не больше). При 10 – 12 и более вариантах следует обязательно вводить дополнительные контроли; это даст возможность получать более точные средние как по контролям, так и по всем остальным вариантам.

Закладка опыта

Разбивка опыта. Прежде чем приступить к разбивке опыта в натуре, необходимо нанести намеченное размещение клиньев и делянок опыта на схематический план участка и уже по нему вести разбивку. Разбивку основных линий в натуре лучше производить стальной землемерной лентой (длиной 10 или 20 м). Отбивка прямых углов чаще всего производится эккером, причем восьмигранный эккер удобнее в работе и точнее, чем зеркальный.

Первая разбивка участка производится с наибольшей точностью, так, установленные при ней точки будут служить исходными при всех последующих разбивках. Допустимая неувязка при разбивке общего контура не должна превышать 5 – 10 см в зависимости от общей длины периметра. После отбивки общего контура приступают к разбивке участка опыта на делянки. Эта работа проводиться уже без эккера – лентой или рулеткой. При однорядном расположении достаточно отложить ширину делянок по обеим сторонам участка и отметить их границы колышками. Ширина последней делянки должна оказаться одинаковой с остальными, в противном случае работу нужно проделать заново. При многорядном расположении сначала откладывают ряды делянок. Если между рядами намечены дорожки, одновременно выделяют и их. Последней операцией является опять разбивка на делянки. Можно производить ее для каждого ряда в отдельности или же отложить делянки только по краевым линиям, а на промежуточных границах или дорожках расставить колышки, провешивая прямые линии с одной стороны на другую.

Закрепление границ опыта. Сделанную разбивку необходимо закрепить, так как угловые (временные) колья могут быть выпаханы или сдвинуты при обработке. Существует много систем закрепления границ опыта, но в основном все они сводятся к тому, что по крайней мере две основные линии участка опыта продолжают по прямой в обе стороны за пределы обрабатываемой площади (на края канав, обочины дорог и т.п.) и на этих продолжениях устанавливают уже постоянные колья (реперы, фиксировочные колья). Расстояния от постоянных (фиксировочных) до угловых временных кольев тщательно измеряют и записывают, с тем чтобы в случае утери угловых кольев их всегда можно было восстановить промером от постоянных. Постоянные колья могут быть сделаны из самого разнообразного материала. Чаще всего для этой цели употребляются толстые деревянные колья с перекладиной или с крестовиной внизу, зарываемые до 50 – 75 см в землю. Употребляются и каменные столбики. Непосредственно на углах севооборотного клина или участка однолетнего опыта также забиваются колья, но уже не такие капитальные. Они всегда рано или поздно повреждаются при пахоте. Поэтому необходимо тщательно проверить их после каждой обработки.

Внесение удобрений. Внесение удобрений представляет один из ответственных моментов полевого опыта как в опытах, в которых удобрение само является изучаемым фактором, так и в тех, в которых оно служит лишь общим фоном для других сравниваемых приемов. Сделанная при внесении удобрений ошибка впоследствии никак не может быть исправлена, а большей частью и не бывает обнаружена.

Минеральные удобрения рассчитываются по содержанию в них основного питательного вещества (N, P_2O_5 и K_2O). Необходимое количество каждого удобрения (в килограммах на делянку) определяется формулой

$$X = \frac{a \cdot 100 \cdot c}{b \cdot 10000} = \frac{a \cdot c}{100 \cdot b},$$

где X – количество удобрений на делянку, кг; a – доза питательного вещества, кг/га; b – питательное вещество в удобрении, %; c – площадь делянки, м^2.

При небольших делянках (меньше 50 м^2) удобнее иметь эту величину в граммах, для чего приведенное выражение надо умножить на 1000:

$$X = \frac{10 \cdot a \cdot c}{b}$$

Навеску менее 1 кг отвешивают с точностью до 1 г, от 1 до 10 кг – с точностью до 100 г. В зависимости от величины навески взвешивание производится на технохимических, на столовых чашечных или на десятичных весах.

Техника рассева удобрений должна обеспечивать возможно равномерное распределение их по делянкам. Ручной рассев удобрений производится из ведер. При рассеве удобрений вручную на большой делянке желательно деление ее на несколько равных частей и внесение соответствующей доли удобрения на каждую часть в отдельности.

При внесении на делянку нескольких удобрений следует строго соблюдать все правила смешения удобрений, излагаемые в курсе агрохимии и практических руководствах. В тех случаях, когда смешение удобрений допустимо, их лучше вносить в смеси, особенно при ручном внесении, так как при этом лучше обеспечивается одинаковое соотношение питательных веществ по всей площади делянки.

При механизированном внесении удобрений, так же как и при высеве различных сортов, засевают сразу все повторные делянки одним удобрением (или одной комбинацией удобрений), после чего сеялку тщательно очищают от остатков этого удобрения, производят установку на новую норму и после этого приступают к высеву следующего удобрения.

Навоз и другие органические удобрения (торф, компосты) обычно вносят по общему весу на единицу площади (в тоннах на 1 га), но правильнее вносить их по расчету на сухое вещество. Расчеты по сухому веществу делают так же, как и по содержанию питательных веществ для минеральных удобрений. В некоторых случаях при изучении эффективности отдельных питательных веществ навоза, его можно вносить по расчету на содержание соответствующего питательного вещества. Если навоз в навозохранилище или в куче недостаточно однороден, то перед вывозкой его необходимо тщательно перемешать в таком количестве, которое достаточно для всего опыта.

Обработка опытных делянок. Обработка опытных делянок, помимо обычных требований, предъявляемых к ее качеству в хозяйственных условиях, должна отвечать требованию полной однородности на всех делянках опыта. При небольших размерах делянок необходимо, чтобы на них не было развальных борозд и свальных бугров, создающих неоднородность внутри делянки. В опытах с удобрениями, в которых обработка сама не является изучаемым фактором, применяется, как уже указывалось, обычно сплошная обработка всего участка опыта или севооборотного клина (в многолетнем опыте). Для того чтобы огрехи, разница в глубине отдельных борозд и другие подобные дефекты не нарушили сравнимости между делянками, направление обработки ориентируют обычно таким образом, чтобы каждая борозда проходила через делянки одного повторения или серии опыта.

При вытянутой форме делянок обработка производится, как правило, поперек делянок (по длине участка). Нужно лишь, чтобы пласт отваливался при первой обработке в одну, а при следующей – в обратную сторону. При квадратной форме делянок и многорядном их расположении обработку можно производить в обоих взаимно перпендикулярных направлениях. Само собой разумеется, что на опытном участке фигурная пахота недопустима, а применима только загонная. Повороты любых орудий должны производиться за пределами участка опыта. Для этого по коротким концам участков или клиньев должны оставаться свободные дорожки не менее 6 м шириной при конной обработке и 10 – 12 м при тракторной. Для продольных дорожек, если поперечная обработка не производится, достаточна ширина от 3 до 5 м.

Для того чтобы свалы и развалы не попадали на учетные делянки, производят одновременно вспашку двух рядов делянок (или двух половин многорядного участка опыта), пригоняя свал или развал на их границу. При достаточной ширине защитных полос (не менее 2 м) и аккуратной работе свал или развал не захватывают учетную часть делянок. Лучше, однако, иметь для этой цели специальную дорожку шириной 1 – 2 м посередине опытного участка. Вспашки участка всвал и вразвал должны чередоваться между собой. При однорядном расположении делянок или многорядном, но при малой величине делянок и отсутствии средней дорожки, на участке опыта приходится прибегать к вспашке в одну сторону.

Посев и посадка в опытах. Посев на опытных участках требует большой тщательности. Так же как и пахоту, посев производят обычно через все делянки повторности, перпендикулярно их длинным сторонам, с тем, чтобы случайные дефекты, например забившийся сошник, влияли одинаково на все варианты опыта. Исключение составляет посев комбинированной сеялкой, когда на отдельные делянки вносят при посеве различные удобрения. В этом случае каждую делянку засевают

отдельно, и посев производят вдоль делянки и поперек участка. Такого рода опыты требуют вытянутой формы делянок и их однорядного расположения. Включение и выключение сеялок производят за пределами собственно опыта, не ближе 1 м от границы (линии угловых кольев). Обсев краев (поперечный) не производят или производят за границей участка опыта.

Первый ход сеялки делают либо по шнуру, натянутому с кола на кол по длинной стороне участка, либо по предварительно сделанной по шнуру бороздке; последнее удобнее. Совершенно недопустимы всякие остановки сеялки во время хода: при небольших делянках остановка сеялки на делянке и связанные с нею просев или двойной высев могут чувствительно повлиять на урожай этой делянки.

При посадке пропашных культур нужно, чтобы число растений на всех делянках было строго одинаково. Для этого ширина междурядий и расстояния между растениями в рядках должны быть рассчитаны таким образом, чтобы на делянку приходилось целое число борозд и кустов (или, наоборот, длину и ширину делянки надо брать кратными стандартным расстояниям между растениями в том или другом направлении). Борозды, так же как и рядки, при посеве лучше располагать вдоль участка и поперек делянок, но при достаточно больших и вытянутых делянках возможно и обратное расположение, т.е. нарезка борозд по длине делянки.

Защитные полосы. При сплошной обработке участков на границах различно удобренных делянок постоянно происходит некоторый перенос почвы, а с ней и внесенных удобрений с одной делянки на другую. Кроме того, сами растения, расположенные по краю делянки, могут использовать своими корнями питательные вещества не только со своей, но и с соседней, более богатой питательными веществами делянки. Поэтому по краям неудобренных (или более слабо удобренных) делянок, граничащих с удобренными, всегда наблюдается некоторая полоса растений, развитых лучше, чем во внутренней части делянки.

Краевые растения, соприкасающиеся с незасеянными дорожками по краю поля, также развиваются сильнее остальных растений, так как они дополнительно используют влагу и питательные вещества с этих дорожек и, кроме того, находятся в лучших условиях освещения. Влияние такого усиленного развития краевых растений на общий урожай с делянки тем сильнее, чем меньше ее площадь. Чтобы избежать ошибки в урожае за счет переноса удобрений и более сильного развития краевых растений, учитывают обычно не всю засеянную площадь делянки, а лишь ее центральную часть, обрезав более или менее широкие полосы по краям делянки.

Эти полосы носят название защитных. Первоначальная площадь, включающая защитные полосы, называется опытной делянкой, а

площадь, остающаяся после обрезки защитных полос и служащая собственно для учета урожая, – учетной делянкой. Так как на границе двух делянок защитные полосы отрезаются по обе стороны границы, то общая ширина неучитываемой полосы, разделяющей учетные делянки, равна удвоенной ширине защитной полосы. Для однолетних опытов допустимы более узкие защитные полосы, но все же желательно иметь их не меньше 75 см (1,5 м в сумме). Иногда защитные полосы по узким сторонам делянок, совпадающим с краями участка, делают шире остальных с тем, чтобы они могли служить защитой от потрав и других случайных повреждений.

Защитные полосы обрабатывают, удобряют и засевают вместе со всей делянкой. Растения убирают на них непосредственно перед уборкой учетных делянок. Для того чтобы можно было точно выделить защитные полосы перед уборкой, необходимо заранее зафиксировать их границы. Чаще всего для этого пробивают по шнуру мотыгой или ручным планетом узкую полосу (15 – 20 см) по границе между учетной делянкой и защитной полосой (в сторону защитной полосы). Такую отбивку производят для яровых культур через 2 – 3 недели после появления всходов (обычно после полного окончания посевной и некоторого освобождения рабочих рук). Для озимых отбивку защитных полос производят поздно осенью или весной до выхода растений в трубку. Существует и ряд других способов выделения защитных полос. Удобно, особенно для небольших делянок, натягивать по границам защитных полос проволоку.

Уход за растениями и сопутствующие наблюдения в течение вегетационного периода

Уход за растениями на опытных делянках не отличается, по существу, от ухода за соответствующими культурами в хозяйственных условиях. Нужно лишь, чтобы все работы по уходу (полка, пропашка и т.п.) выполнялись постоянно и совершенно одинаково по всем делянкам и не растягивались во времени. Желательно, чтобы эти работы, по крайней мере в пределах каждого повторения, производились в течение одного дня.

В опытах могут и должны применяться все существующие способы борьбы с вредителями и болезнями растений, не влияющие на питательный режим почвы. Конечно, нельзя применять в опытах с фосфатами суперфосфат для борьбы с полевым слизнем или томасшлак для борьбы с блошкой.

К специальным работам по уходу на опытном поле относятся: поддержание в чистоте дорожек и запольных участков, обрезка по шнуру концов после появления всходов и т.п.

Учет результатов опыта

Подготовка к учету. Прежде чем приступить к учету урожая, надо удалить растения с тех частей делянки, которые не поступают в учет. Прежде всего, убирают защитные полосы. Для культур сплошного посева защитные полосы выжинают или выкашивают по заранее пробитым бороздам или по натянутой проволоке. Если растения слишком густы, полегли или перепутались, так что границы защитных полос плохо видны, их предварительно проходят и разбирают руками. Снопы с защитных полос выносят на дороги, чтобы их нельзя было смешать с урожаем учетных делянок. Для пропашных культур отсчитывают число борозд или рядков, приходившихся на защитные полосы; выкапывают и урожай увозят с поля.

После производят последний осмотр учетных делянок, при котором отмечают выключки или производят полную выбраковку отдельных делянок. Выключку и выбраковку целых делянок делают с учетом всех предыдущих записей и наблюдений и лишь в том случае, если есть совершенно объективные данные, говорящие о вымочке, повреждении, ошибке в работе или какой-либо другой причине, заведомо изменившей урожайность делянки или ее части. Делать выключки и браковать делянки на основании чисто субъективного впечатления о неоднородности повторений или частей делянки ни в коем случае не следует.

Для простоты последующих расчетов выключки следует делать прямоугольными или, еще лучше, выключать определенную часть делянки: половину, треть, четверть и т.д. При небольших делянках (10 – 20 $м^2$) и достаточной повторности лучше вообще не делать выключек, а выбраковывать делянки целиком. Урожай с тех и других также удаляют за пределы участка опыта. Для пропашных делают одновременно подсчет наличных кустов или корней на каждой учетной делянке для внесения в дальнейшем поправок на недостающие растения.

Прямой и косвенный методы учета урожая. Для учета опыта может быть использована либо вся масса урожая, полученного с учетной делянки, либо ее часть, представляющая составленную тем или иным способом среднюю пробу из урожая всей делянки. Первый метод учета урожая может быть назван прямым, второй – косвенным. В применении к зерновым культурам прямой метод учета называется учетом по обмолоту всей делянки. Наиболее распространенным косвенным методом учета зерновых является учет по пробному снопу.

Сущность учета по *пробному снопу* заключается в том, что в сушку и на учетный обмолот поступает не весь урожай учетной делянки, а лишь средняя проба из него – пробный сноп. Определив урожай зерна и соломы в подобном снопе и зная соотношение весов урожая всей делянки и пробного снопа, высчитывают тот урожай зерна и соломы, который получился со всей делянки.

Пробные снопы должны составлять не меньше 1 – 2% от общей массы урожая, так как иначе они представляют недостаточно характерную среднюю пробу. Слишком большие снопы тоже неудобны, так как плохо сохнут в мешках. На Долгопрудненской агрохимической опытной станции пробные снопы берут обычно весом 4 – 5 кг. Некоторые авторы рекомендуют более крупные снопы – 5 – 7 кг и больше.

Учет картофеля и корнеплодов, как правило, производят путем взвешивания всей массы урожая. Взвешивать урожай можно и на месте, и в сарае, куда весь урожай привозят в мешках с этикетками. Более удобным следует считать взвешивание урожая непосредственно на делянке. В случае большой влажности почвы клубни или корни раскладывают до взвешивания на несколько часов нетолстым слоем на делянке для подсушки, а затем протряхивают на ручном грохоте. Взвешивать удобно в корзинах или специальных носилках с ящиком. Во многих случаях определяют и урожай ботвы, которую также взвешивают на месте. При различной степени подсыхания ботвы из нее берут средние пробы для определения влажности. Эти пробы чаще всего приходится сушить в огневой сушилке или определять влажность лабораторными методами.

Очень часто приходится брать пробы из урожая корней и клубней (для определения крахмала в картофеле, сахара – в сахарной свекле, сухого вещества в кормовой свекле и т.д.). Пробы собирают обычно в количестве 10 – 15 кг картофеля и нескольких десятков корней корнеплодов и хранят в мешках с этикетками. Эти пробы составляют таким образом, чтобы соотношение крупных, средних и мелких экземпляров в пробе по возможности соответствовало их соотношению во всем урожае делянки.

ВЕГЕТАЦИОННЫЙ МЕТОД

Многие вопросы агрохимии и физиологии питания растений решаются при помощи вегетационного метода, то есть постановкой опытов с выращиванием растений в сосудах, в строго контролируемых условиях корневого питания и снабжения растений водой.

В зависимости от того, в какой среде (вода, песок, почва) выращиваются растения, различают следующие модификации вегетационного метода: *водная, песчаная* и *почвенная культура*. При проведении опытов летом обычно растения выращиваются в *вегетационном домике*. Сосуды с растениями стоят на вагонетках, которые могут легко выкатываться на площадку перед домиком, где они находятся в естественных условиях освещения и температуры. Ночью и во время дождя вагонетки с растениями вкатываются в домик, где благодаря хорошей вентиляции температура близка к температуре открытого воздуха. Зимой растения выращивают в зимних теплицах при до-

полнительном освещении (люминесцентные лампы или большие лампы накаливания). В водных и песчаных культурах все необходимые элементы минерального питания дают в виде *питательных смесей.*

Питательные смеси для водных и песчаных культур растений

Питательные смеси должны содержать все необходимые элементы минерального питания в усвояемой форме и в концентрации, не оказывающей вредного действия на растение. В питательной смеси создают и поддерживают в течение опыта оптимальную для каждого растения концентрацию водородных ионов.

Известно, что для растений, безусловно, необходимы следующие группы элементов минерального питания: 1) *K, Ca, Mg, S, P, N*; 2) *Fe*; 3) *B, Mn, Zn, Cu, Mo.*

К первой группе относятся макроэлементы, содержание которых в растениях довольно велико (от 0,1 до нескольких процентов сухого веса). При концентрации до 200 – 300 мг/л в наружном растворе они не оказывают вредного действия на растение. Третья группа – микроэлементы, содержание которых в растении составляет сотые, тысячные и десятитысячные доли процента от сухого веса растения. Большинство микроэлементов в растворе при концентрации выше 0,1 – 0,5 мг/л угнетает рост растений. Железо занимает промежуточное место между макро- и микроэлементами. Его оптимальная концентрация в наружном растворе 5-10 мг/л. Во всех питательных смесях *S, P, B* и *Mo* входят в виде анионов SO_4^{2-}, PO_4^{3-}, BO_3^-, *и* MO_4^{2-}, азот – в виде NO_3^- и NH_4^+, железо большей частью применяют трехвалентное, иногда двухвалентное.

Типы питательных смесей

Рецептов питательных смесей очень много. Несмотря на кажущееся разнообразие смесей, все они принадлежат к одному из трех типов в зависимости от источника азота и фосфора, поскольку именно соли этих элементов определяют в конечном итоге реакцию среды в растворе. Соли, содержащие азот и фосфор, называют сопряженной парой. Сопряженные пары солей в трех типах смесей следующие: 1) $Ca(NO_5)_2$ и KH_2PO_4; 2) KNO_3 и $Fe_3(PO_4)_2$; 3) NH_4NO_3 и $CaHPO_4$ или $Ca_3(PO_4)_2$.

Первый тип смесей характеризуется тем, что химически кислой соли KH_2PO_4 противопоставляется физиологически щелочная соль $Ca(NO_3)_2$. При росте растений на этих смесях, как правило, реакция смещается в щелочную сторону. Все соли даются в легкорастворимой форме. К этому типу принадлежат смеси Кнопа, Гельригеля, Хоглэнда, Тотингэма и Шайва и многие другие.

Второй тип смесей содержит азот в виде KNO_3 – слабо физиологически щелочной соли. Источник фосфора – труднорастворимая соль

$Fe(PO_4)_2$, способная к гидролитическому расщеплению. При этом образуется слабое основание – гидрат железа и более сильная кислота H_3PO_4. Поэтому уменьшается подщелачивание раствора, вызванное физиологической щелочностью азотнокислого калия. Примером смеси второго типа является смесь Крона (табл. 43).

42. Концентрация солей в некоторых смесях

Соль	Концентрация соли в смесях					
	Кнопа		Гельригеля		Хогленда	
	г/л	ммоль/л	г/л	ммоль/л	г/л	ммоль/л
$Ca(NO_3)_2$	1,00	6,1	0,492	3,0	0,821	5
KH_2PO_4	0,25	1,8	0,136	1,0	0,136	1
$MgSO_4$	0,125	1,0	0,060	0,5	0,120	1
KCl	–	–	0,075	0,5	–	–
KNO_3	0,25	2,5	–	–	0,506	5
$FeCl_3$	следы	следы	0,025	0,15	–	–
Fe винно-кислое	–	–	–	–	0,005*	0,03
	1,63	12,5	0,788	5,15	1,588	12,3

* Виннокислое железо прибавляется периодически в течение вегетации.

43. Состав смеси Крона

Соль	KNO_3	$Fe_3(PO_4)_2$	$Ca_3(PO_4)_2$	$CaSO_4 \cdot 2\,H_2O$	$MgSO_4 \cdot 7\,H_2O$
Концентрация, г/л	1	0,25	0,25	0,50	0,50

Характерная особенность смеси – наличие труднорастворимых солей $Fe_3(PO_4)_2$, $Ca_3(PO_4)_2$ и $CaSO_4$. Соли находятся в осадке, в растворе находятся ионы Ca^{2+}, Fe^{2+} и PO_4^{3-} в очень низкой концентрации. По мере поглощения растением этих ионов в раствор из осадка переходят новые порции солей. Таким образом, концентрация их в растворе удерживается на низком, но постоянном уровне. В некоторой степени эта смесь имитирует условия питания растений в почве, так как в почвенном растворе многие вещества находятся в очень низкой концентрации и также по мере использования их растением пополняются за счет растворения труднорастворимых соединений.

Третий тип смесей разработан впервые в 1901 г. Д.Н. Прянишниковым и его сотрудниками. Стремясь избежать физиологической щелочности, Д.Н. Прянишников заменил азотнокислый кальций азотнокислым аммонием – слабо физиологически кислой солью. Подкисление смеси уменьшается благодаря буферности $CaHPO_4$, взятой как источник фосфора. Позднее в лаборатории Прянишникова были разработаны Ш.Р. Цинцадзе (1928) такие смеси (табл. 44), в которых pH раствора почти не изменяется в течение длительного периода роста растений.

44. Состав питательной смеси Прянишникова и смеси Цинцадзе со стабильной реакцией сред

Соль	Концентрация соли в смесях, г/л					
	Прянишникова		Цинцадзе, при значениях pH			
	г/л	ммоль/л	4,0	5,0	5,5 – 6,6	7,3
NH_4NO_3	0,240	3	0,33	0,33	0,20	–
$CaHPO_4 \cdot 2HO_2$	0,172	1	–	–	–	–
$MgSO_4$	0,06	0,5	0,50	0,50	0,50	0,50
$CaSO_4 \cdot 2H_2O$	0,344	2	1,46	0.50	–	0,28
KCl	0,150	2	0,61	0,61	0,36	–
$FeCl_3$	0,025	0,15	–	–	–	–
KNO_3	–	–	0,17	0,17	0,51	0,80
$Fe_2(SO_4)_3$	–	–	0,04	0,25	0,32	0,25
$FePO_4$	–	–	0,68	–	–	–
$Ca_3(PO_4)_2$	–	–	–	0,70	5,00	0,70
$Ca(NO_3)_2$	–	–	–	–	–	0,21
KOH	–	–	–	–	–	0,17

Для составления этих смесей учитывались следующие свойства некоторых компонентов: 1) буферность фосфатов кальция, 2) гидролитическая кислотность $Fe_2(SO_4)_3$, 3) физиологическая кислотность NH_4NO_3 и физиологическая щелочность KNO_3. Как видно, смеси Прянишникова и Цинцадзе наряду с легкорастворимыми солями содержат и труднорастворимые.

45. Современные рецептуры для выращивания растений в водной культуре

Компоненты мг/л	Смесь ЛТА	Смесь Била	Смесь Калифорнийской опытной станции	Смесь Гидро Агри
NH_4NO_3	-	200	-	-
$(NH_4)_2SO_4$	160	-	-	-
$Ca(NO_3)_2$	2570	-	475	540
KH_2PO_4	300	-	136	128
KNO_3	-	500	1010	450
K_2SO_4				336
H_3PO_4 (77%)	-	-	-	76
$Ca(H_2PO_4)$	-	550	-	-
$MgSO_4$	600	300	120	60
$FeCl_3$	1			-
$Fe_2(SO_4)_3$	-	22	220	-
H_3BO_3	2	2,9	2,9	1,82
H_2SO_4		0,9	0,9	-
$MnSO_4$		1,9	1,9	1,53
$CuSO_4$		0,2	0,2	0,11
$ZnSO_4$		0,2	0,2	1,08
Хелат железа (феризан)	-	-	-	3,55

В смесях всех типов общая концентрация растворимых солей не превышает 0,2 – 0,3%. Поэтому все соли полностью диссоциированы и, следовательно, все питательные вещества находятся в виде ионов, которые могут реагировать друг с другом, давая новые нерастворимые соединения.

Если в прописях питательных смесей отсутствуют микроэлементы, рекомендуется использовать раствор Браунера-Букача.

46. Раствор Браунера-Букача, мг/л (1 мл раствора добавляют к 1 л готовой питательной смеси без микроэлементов)

Компоненты	мг/л	Компоненты	мг/л
$MnCl_2$	350	$Co(NO_3)_2$	50
H_3BO_3	500	TiO_2	50
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	50	LiCl	25
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	50	KBr	25
$Al_2(SO_4)_3 \cdot 18H_2O$	50	KI	25
$NiSO_4 \cdot 7H_2O$	50	$SnCl_2.2H_2O$	25

Источники железа. В большинстве питательных смесей железо дается в виде неорганических солей $FeCl_3$ или $Fe_2(SO_4)_3$. Но ионы железа, встречаясь в растворе с ионами PO_4^{3-}, могут выпасть в осадок белого цвета в виде $FePO_4$, что особенно часто бывает, когда pH раствора становится выше 6,5. В более щелочных растворах выпадает также осадок и гидрата железа желтого цвета.

В некоторые смеси железо входит в виде труднорастворимого фосфорнокислого железа (трех- и двухвалентное). При использовании в качестве источника железа неорганических солей с повышением pH смеси концентрация иона железа очень понижается, но после того как pH становится выше 8,5, растворимость фосфорнокислого железа вновь увеличивается. Понижение концентрации железа в растворе может вызвать хлороз растений.

С целью устранения возможности наступления хлороза при выращивании растений стали применять железо в виде солей органических кислот: лимонной и винной. Эти кислоты образуют с железом достаточно прочные комплексные соединения, поэтому оно удерживается в растворе даже при высоких pH. Растения легко используют железо из этих комплексов. Несмотря на большие преимущества использования цитрата и цитрата железа, есть и трудности в их применении. Винная и лимонная кислоты – хороший субстрат для некоторых бактерий. При интенсивном поглощении кислорода корнями иногда в питательной смеси могут создаться анаэробные условия и благодаря деятельности микроорганизмов будут происходить процессы денитрификации и восстановления сульфатов до S^{2-}. При этом часто образуется сернистое железо, которое осаждается на корнях, отравляя их. Такие процессы

особенно быстро протекают в жаркую погоду и приводят к гибели растений. Поэтому при применении виннокислого и лимоннокислого железа его вносят небольшими порциями (0,5 – 1 $см^3$ 0,5%-го раствора на 1 л смеси) периодически через 2 – 3 дня и очень тщательно следят за аэрацией растворов.

В настоящее время применяются другие комплексы железа, так называемые хелаты. Из них наибольшее распространение получил хелат железа с этилендиаминтетрауксусной кислотой, имеющий большую прочность в щелочном растворе.

Кроме обычного внесения железа в раствор для устранения уже появившегося хлороза можно применять внекорневые подкормки. Для этого вечером надземные органы растений опрыскивают раствором $FeCl_3$ (0,01 – 0,02%-й). Нельзя давать внекорневые подкормки утром, так как нагревание солнечными лучами листьев, смоченных раствором, может повредить растение.

Микроэлементы. Бор вносится в виде борной кислоты (H_3BO_3), ***молибден*** – в виде натриевой или аммонийной соли молибденовой кислоты H_2MoO_4, ***марганец, медь*** и ***цинк*** – в виде двухвалентных солей серной или соляной кислоты.

Обычные концентрации микроэлементов для большинства растений приведены в табл. 47.

47. Концентрация микроэлементов в питательных смесях

Элемент	*B*	*Mn*	*Cu*	*Zn*	*Mo*
Концентрация, мг/л	0,1 – 1,0	0,1 – 1,0	0,01 – 0,05	0,02 – 0,1	0,01 – 0,1

Некоторые растения, например подсолнечник, хлопчатник, бобы, свекла, очень требовательны к наличию бора. Доза бора для них может быть повышена до 1 – 2 и 3 мг/л. Даже при составлении питательной смеси на водопроводной воде прибавление больших доз бора для этих растений является необходимым.

В опытах по изучению влияния на растения недостатка микроэлементов используемые для составления питательных смесей соли и воду специально очищают.

pH питательных смесей. Большое значение при выращивании растений имеет реакция среды. Кроме прямого действия на растение концентрация водородных ионов оказывает косвенное влияние на питание растений путем изменения растворимости различных питательных веществ.

В табл. 48 приведены оптимальные значения pH среды для некоторых растений. Но нужно указать на относительность этих величин. Концентрация водородных ионов – фактор, влияние которого на растение меняется в зависимости от концентрации других ионов в растворе. Как

показали работы Д.Н. Прянишникова, А.В. Петербурского, особенно большую роль играет кальций; чем выше его концентрация в растворе, тем больше диапазон оптимального значения pH среды для растения и тем большую концентрацию водородных ионов могут выносить растения, не повреждаясь.

48. Оптимальное значение pH среды для роста растений.

Культура	pH	Культура	pH
Пшеница	6,5 – 7,8	Капуста	5,0 – 6,0
Ячмень	6,5 – 7,8	Картофель	5,0 – 7,2
Рожь	5,0 – 6,0	Конопля	6,0 – 7,0
Овес	5,0 – 6,0	Лен	5,0 – 6,0
Кукуруза	5,5 – 7,5	Огурцы	5,5 – 7,4
Бобы конские	6,0 – 7,0	Салат	6,0 – 8,0
Горох	6,0 – 7,0	Подсолнечник	5,7 – 6,5
Люпин	4,5 – 6,0	Сахарная свекла	7,0 – 8,0
Люцерна	6,2 – 7,8	Табак	5,2 – 6,5
Фасоль	6,7 – 7,4	Томат	5,6 – 6,5
Гречиха	5,0 – 6,5	Тыква	6,0 – 7,0

Также очень большое влияние на величину оптимальной концентрации водородных ионов оказывает источник железа и азота. Согласно исследованиям Д.Н. Прянишникова (1954), оптимальный pH для роста свеклы при нитратном питании 7,0, а при аммонийном 5,5.

Техника постановки водных культур

Семена исследуемой культуры проращивают на фильтровальной бумаге, а затем переносят на парафиновый диск, плавающий в кристаллизаторе, заполненном водой. Через несколько дней проростки высаживают в сосуды с питательной смесью.

Приготовление парафиновых дисков

Парафин расплавляют в фарфоровом стакане или чашке на водяной бане. Нельзя нагревать сосуд с парафином непосредственно на газовой горелке или электроплитке, так как парафин может вспыхнуть. Расплавленный парафин выливают на поверхность теплой (50 – 60°С) воды, налитой в сосуд нужного диаметра. При остывании парафина образуется пластинка с ровными верхней и нижней поверхностями. Если парафин вылить в холодную воду, то при быстром охлаждении его нижняя поверхность становится очень неровной. Толщина слоя парафина зависит от величины семян, с которыми предстоит работать. Для кукурузы, гороха, люпина, бобов, тыквы, хлопчатника и др. делают парафиновый диск толщиной 10-12 мм, для семян хлебных злаков, огурцов и других – 6 – 8 мм. Как только парафин начинает затвердевать, диск отделяют скальпелем или

ножом от внутренних стенок сосуда и оставляют на воде до полного остывания. Вынимают диск, когда он еще достаточно эластичен, кладут на стекло верхней поверхностью вниз и сверлом или стеклянной трубкой на ровном расстоянии друг от друга делают отверстия, диаметр которых чуть-чуть меньше диаметра семян. На периферии круга просверливают два или три отверстия, в которые продевают звонковый провод, делая из него дужку, за которую можно вынимать парафиновый круг. Для очень мелких семян табака, амарантуса и других растений складывают в два или три раза марлю и опускают ее в расплавленный парафин. После остывания иглой делают в марле мелкие отверстия для семян.

Подготовка сосудов

Обычно пользуются стеклянными цилиндрическими сосудами объемом 3 – 5 л. Для больших растений берут сосуды большого объема. Все сосуды для одного опыта берутся одинаковые; объем их измеряют мерным цилиндром. Уровень питательной смеси должен быть на 1,5 – 2,0 см ниже верхнего края сосуда. Восковым карандашом отмечают исходный уровень смеси в сосуде. В дальнейшем по этой метке производят корректировку объема смеси.

Для защиты корневой системы от света на сосуды надевают футляры. Их делают из двух слоев материи, изнутри черной, сверху белой (чтобы сосуды не перегревались). Вверху футляры стягиваются тесемкой. Сосуд должен свободно входить в футляр, чтобы во время выращивания растений можно было наблюдать за корнями. Можно обернуть сосуд картоном или плотной бумагой, сложенной в несколько рядов. Сосуды закрывают крышками, в которых укрепляют растения.

Подготовка крышек

Наиболее распространены деревянные крышки (рис. 36). Можно изготовить крышки из эбонита, пластмассы или корковой пробки. Нижняя часть крышки имеет диаметр на 1 – 1,5 см меньше внутреннего диаметра сосуда, а верхняя несколько больше наружного диаметра. Крышка для выращивания одного растения имеет одно отверстие в середине и вырезной сектор. Такое устройство крышек позволяет легко вынимать растения любого возраста из отверстия крышки, не повреждая корней.

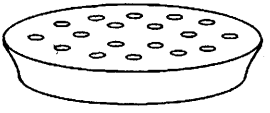


Рис. 36. Крышка для выращивания нескольких растений

Крышки для выращивания нескольких растений имеют несколько отверстий. В крышке имеется отверстие, куда вставляется трубка для продувания воздуха через раствор.

Во избежание развития плесневых грибов и бактерий крышки пропитывают парафином, для чего чисто вымытые крышки опускают в чашку с расплавленным парафином, стоящую на нагретой водяной бане. Новые крышки выдерживают в жидком парафине около часа, после этого их вынимают и ставят на ребро, давая стечь парафину. Последний должен пропитать дерево, однако так, чтобы на крышке при остывании не было заметного слоя парафина, так как летом при нагревании солнцем он может расплавиться и покрыть поверхность раствора в сосуде пленкой, мешающей диффузии кислорода в раствор. Крышки, бывшие в употреблении, перед постановкой опыта вновь парафинируют.

Трубки для продувания диаметром 6 – 10 мм имеют загнутый под тупым углом верхний конец и оттянутый нижний для образования мелких пузырьков воздуха. В каждый сосуд вставляют отдельную трубку.

Подготовка семян

Для опытов берут чистосортные семена с хорошей всхожестью и энергией прорастания. Их проверяют перед началом опыта. Отбирают одинаковые по размерам и внешнему виду семена в количестве, в 5 – 6 раз большем, чем предполагаемое число растений в опыте.

Если предварительное проращивание показало, что семена заражены грибами, то семена протравливают, для чего их опускают на 5 мин в 1%-й формалин, постоянно помешивая стеклянной палочкой (семена должны свободно плавать в формалине). Формалин сливают через воронку Бюхнера и тщательно промывают семена водопроводной водой. Отобранные семена насыпают тонким слоем в кристаллизатор или кювету, наливают водопроводной воды или, когда это требуется, дистиллированной высотой 2 – 3 см. После 4 – 12-часового набухания семена раскладывают для прорастания правильными рядами на влажной фильтровальной бумаге в кристаллизаторе (зародыши семян должны быть направлены в одну сторону; расстояние между рядами 2 – 3 см). Внутренние боковые стенки кристаллизатора покрывают полосой влажной фильтровальной бумаги. Сверху закрывают стеклом, с нижней стороны которого также положена влажная фильтровальная бумага. Она не доходит немного до стенок кристаллизатора. Между стеклом и стенками кристаллизатора с одной стороны оставляют небольшую щель для свободного доступа воздуха. Один или два раза в день просматривают бумагу и при необходимости увлажняют ее. Семена можно проращивать иначе, для чего на дно кристаллизатора или кюветы на какую-либо подставку кладут стекло, покрывают его фильтровальной бумагой, концы которой опускают в налитую на дно кюветы воду. Бумага при этом сохраняется все время влажной.

Следует отметить, что имеются некоторые семена, которые прорастают только в темноте или гораздо быстрее в темноте, чем на свету

(тыква и др.). Есть другая группа семян: они прорастают только на свету (амарантус).

Подготовка проростков

Когда у большинства семян корни вырастут до 1,5 – 2 см, отбирают проростки с равной длиной корней и высаживают их в отверстия парафинового диска, плавающего на водопроводной, дистиллированной воде или питательной смеси (в зависимости от схемы опыта). Ежедневно меняют воду в кристаллизаторе, следя за тем, чтобы температура свежей порции воды была такой же, как и в кристаллизаторе с проростками.

На парафиновом диске проростки находятся до тех пор, пока надземные органы (колеоптиль, гипокотиль) не достигнут высоты 3 – 4 см. Проростки некоторых растений образуют боковые корни, располагающиеся на поверхности парафинового диска. Эти корни могут подсыхать. Поэтому такие семена после набухания лучше проращивать во влажном кварцевом песке (в глубоком кристаллизаторе). Когда надземные органы достигнут высоты 3 – 4 см, проростки пересаживают сразу в сосуды с питательной смесью. Для того чтобы не повредить корни, песок отмывают водой до полного удаления прилипших песчинок.

Подготовка растворов питательных солей

Приготовляют исходные растворы каждой соли отдельно. Концентрация растворов должна быть такой, чтобы при составлении смеси можно было легко взять отмериваемый объем раствора. Например, для приготовления 5 л смеси Кнопа удобны растворы 10%-й $Ca(NO_3)_2$ и 5%-й KH_2PO_4. Первого раствора нужно взять 50 $см^3$, а второго 25 $см^3$. При большем числе сосудов в опыте смесь готовят сразу на несколько сосудов в бутылки объемом 10 – 20 $дм^3$, отмечая предварительно уровень нужного объема. Концентрацию растворов солей рассчитывают в объемных процентах (грамм на 100 $см^3$ раствора). Предварительно проверяют, содержат ли соли кристаллизационную воду.

Соли железа не вносят в общую бутыль, а отмеривают в каждый сосуд после того, как туда будет налита приготовленная смесь. Растворы солей хранят в темных склянках. Приготовляют индикаторы для определения pH от 4 до 8.

Приготовление питательной смеси

Составляют в рабочей тетради таблицу, где указаны схема опыта, номера серий, номера сосудов каждой серии, концентрация исходных растворов, количество миллилитров, которое нужно брать, и объем приготовляемой смеси.

Наливают воду в бутыль или сосуд в объеме несколько меньшем конечного. Затем приливают (отмеривают пипеткой) рассчитанное количество миллилитров растворов солей в определенном порядке. Сначала приливают те соли, которые при смешивании не могут дать не-

растворимых соединений; например, при приготовлении смеси Кнопа берут *KCl, $MgSO_4$, KH_2PO_4*, хорошо перемешивают, а затем приливают $Ca(NO_3)_2$ и доливают водой до метки. После вторичного перемешивания определяют pH смеси и, если нужно, доводят до заданной величины, прибавляя 5 – 10%-ю H_2SO_4 или 5 – 10%-й NaOH. Записывают количество прилитой кислоты или щелочи. При приготовлении следующей порции смеси без предварительного определения pH сразу приливают то же количество кислоты или щелочи. Затем смесь разливают в сосуды и отдельно в каждый вносят соль железа.

Если работают со смесью, в состав которой входят трудно-растворимые соли, то предварительно приготовляют навески этих солей для каждого сосуда отдельно. Хранят их в кальке или гладкой писчей бумаге. Высыпают приготовленные навески в сосуды после того, как в них налита смесь растворимых солей. После хорошего перемешивания устанавливают pH в каждом сосуде. Из-за присутствия в смеси трудно-растворимых солей равновесие может наступить не сразу, поэтому рекомендуется через 12 – 24 ч еще раз проверить pH и только после этого высаживать растения.

Высаживание проростков в сосуды

Из проростков, находящихся на парафиновом диске, тщательно отбирают одинаковые по размерам надземных органов и корневой системы. Из ваты приготовляют длинную узкую полосу, завертывая ее края внутрь так, как это делают для пробок в микробиологической работе. Плотно обертывают гипокотиль или колеоптиль растения и вставляют в отверстие деревянной крышки сосуда так, чтобы семена не были погружены в раствор, а находились непосредственно под крышкой. В крышках для нескольких растений узкие части отверстий плотно закрывают ватой. Вместо ваты можно укреплять растения при помощи кусочков хорошо промытой и прокипяченной резиновой губки.

Переносить проростки в сосуды на питательную смесь нужно вечером. Рекомендуется сначала дать смесь, разбавленную в 2 – 4 раза. Несоблюдение этих условий может привести к завяданию и даже гибели растений из-за резкого изменения их водообмена.

Уход и наблюдение за растениями

Ежедневно в течение 5 мин сосуды с растениями продувают воздухом. Этого времени достаточно для насыщения смеси кислородом. В жаркие дни целесообразно продувать растения два раза в сутки.

Одновременно продувают 4 – 8 сосудов, присоединяя верхние концы опущенных в них стеклянных трубок к резиновой груше или насосу с помощью гребенки или системы тройников. Во время продувания следят, чтобы во всех сосудах скорость тока воздуха была одинаковой (2 – 3 пузырька в секунду), а стеклянные трубки доходили до дна сосудов. Ток пузырьков воздуха не должен быть сильным, так как это

может повредить нежные части корней и привести к намоканию ваты крышек, что вызовет рост грибов и водорослей.

Ежедневно сосуды доливают дистиллированной водой до метки; при экономии дистиллированной воды можно приливать равное количество водопроводной. Если в некоторых сосудах объем раствора остается меньше заданного, то доливают до метки дистиллированной водой. Записывают количество прилитой водопроводной воды для учета внесенных с нею солей.

Ежедневно или через день проверяют pH раствора, записывая его. Если он изменился, то крышку с растениями переносят в запасной сосуд с водой. В сосуд с питательной смесью приливают столько кислоты или щелочи, сколько нужно для доведения pH до заданной величины. Если приливать кислоту или щелочь в смесь, не вынимая растений, то можно легко повредить корни. Графическое изображение смещения pH, происходящего за сутки в каждом сосуде, помогает при обработке результатов опытов выяснить, насколько одинаковы условия реакции среды в разных сосудах.

В течение вегетационного периода смеси в сосудах меняют несколько раз на свежеприготовленные. Обычно это делают через 2 – 4 недели. При смене растворов сосуды тщательно моют (часто на верхней части стенок сосудов образуется осадок фосфорнокислого кальция, который отмывают соляной кислотой).

Если вата, которой укреплены растения, окажется смоченной, ее сейчас же заменяют сухой.

Если выращиваемое растение становится высоким, то во избежание его поломки на сосуд надевают проволочный каркас. Нижняя часть каркаса доходит почти до основания сосуда и укрепляется тесемкой.

Каковы бы ни были задачи опыта, обязательно производят фенологические наблюдения. Кроме того, отмечают в дневнике все характерные особенности растений различных вариантов опыта: форму и цвет листьев, стеблей; угол черешка листьев к стеблю, угол расположения побегов кущения у злаков; временную потерю тургора листьев; особенности формы и роста корневой системы и т.д.

Для решения ряда вопросов пользуются некоторыми модификациями метода водных культур. Основные из них: 1) текучие культуры и 2) культуры с изолированным питанием корней.

Техника постановки песчаных культур

Растения выращивают в сосудах, наполненных кварцевым песком с питательной смесью. Используют такие же питательные смеси, что и для постановки водных культур. Твердая среда, где находятся корни, создает условия, более близкие к обычным условиям роста растений в почве, но в

то же время позволяет исключить влияние сложных химических и биологических процессов, всегда идущих в почве.

В опытах используют чистый кварцевый песок, просеянный через сито с отверстиями 0,5 – 0,8 мм. Песок состоит из SiO_2 (99%) и небольшого количества примесей: Al, Fe, Ca, Mg и др.

В тех случаях, когда требуется полное отсутствие питательных веществ, особенно микроэлементов, песок промывают крепкой соляной кислотой. Последнюю наливают в стеклянные сосуды до половины, а затем всыпают песок. Закрывают сосуды стеклами и оставляют на 2 – 3 дня, периодически помешивая толстой стеклянной палочкой. Затем сифоном сливают кислоту, которую можно использовать для промывки других порций песка. Промывают песок водопроводной водой до полного удаления соляной кислоты (проба на лакмус) и дистиллированной до отсутствия реакции на Cl, которую проводят с $AgNO_3$. Песок высушивают и прокаливают на железных противнях при 400°С. Приготовленный песок складывают в лари или плотно закрытые ящики. Влажность песка не должна меняться за время набивки сосудов.

Определение влагоемкости и влажности песка. Влажность песка определяют высушиванием проб при 105°С. Для определения влажности и влагоемкости нужно правильно взять среднюю пробу.

Полная капиллярная влагоемкость песка или почвы – это количество воды, удерживаемое капиллярными силами в 100 г абсолютно сухого песка или почвы. Для определения влагоемкости служат специальные металлические цилиндры диаметром 4 см, высотой 18 см. Цилиндр имеет сетчатое дно, расположенное на расстоянии 1 см от его нижнего края. На дно цилиндра кладут двойной кружок влажной фильтровальной бумаги, взвешивают цилиндр на технических весах и насыпают в него почти доверху песок, слегка постукивая по стенкам цилиндра, благодаря чему песок будет лежать более плотно. Цилиндры ставят на дно кристаллизатора с небольшим слоем воды. Уровень воды в кристаллизаторе должен быть на 5 – 7 мм выше уровня сетчатого дна. Для уменьшения испарения воды всю установку или только цилиндры закрывают стеклянным колпаком. После того как вода поднимется до поверхности песка, что заметно по изменению его цвета, цилиндры вынимают из воды, обсушивают снаружи и ставят на фильтровальную бумагу. Как только вода перестанет стекать, цилиндры взвешивают на технических весах и на 1 – 2 ч помещают в кристаллизатор под колпак и вновь взвешивают. Эту операцию повторяют до тех пор, пока вес цилиндра с почвой, поглотившей воду, не станет постоянным. Нельзя после первого взвешивания ставить цилиндр в воду на длительное время, так как тогда может произойти сильное уплотнение почвы. Определение влагоемкости проводят в двукратной повторности. Одновременно берут две пробы для определения влажности.

Расчет полной влагоемкости песка проводят по следующей схеме.

1. Рассчитывают навеску воздушно-сухого песка, взятую в цилиндр.
2. Рассчитывают вес абсолютно сухого песка.
3. Рассчитывают вес пустого цилиндра + вес абсолютно сухого песка.
4. По разности между весом цилиндра с песком, насыщенным водой, и весом пустого цилиндра + вес абсолютно сухого песка рассчитывают количество воды, удерживаемой данной навеской.
5. Количество удерживаемой воды рассчитывают в процентах от абсолютно сухого песка.

Подготовка сосудов

Для песчаных культур используют эмалированные или толстостенные стеклянные сосуды. Нельзя пользоваться сосудами из оцинкованного железа, так как цинк может оказать вредное действие на растения.

Существуют два типа сосудов: сосуды Вагнера и сосуды Митчерлиха. В металлических сосудах первого типа полив производится по весу до 60 – 70% от полной влагоемкости почвы через впаянную сбоку трубку, в стеклянных сосудах – через стеклянную трубку, вставленную в сосуд. В сосудах Митчерлиха на дне имеется продолговатое отверстие, закрытое сверху желобом.

Сосуды с почвой или песком ставят на поддонники. Полив производят сверху до тех пор, пока вода не пройдет через весь слой песка и не начнет стекать в поддонник. На следующий день полив начинают с того, что жидкость из поддонника выливают в этот же сосуд, а затем уже приливают воду.

При выращивании растений в сосудах Митчерлиха вследствие насыщенности почвы водой нередко наблюдается недостаток кислорода. Поэтому следует отдать предпочтение сосудам Вагнера.

Отбирают одинаковые сосуды, вес которых не должен различаться более чем на 100 г, моют водопроводной водой, если нужно, то и дистиллированной, а затем высушивают.

Приготавливают стекло для дренажа. Для этого куски толстостенной стеклянной посуды завертывают в плотную тряпку и разбивают молотком на куски площадью 4 – 8 $см^2$. Работающий обязательно надевает защитные очки. Битое стекло заливают крепкой соляной кислотой на 2 – 3 дня, после чего сливают ее сифоном, хорошо промывают стекло водопроводной, а затем дистиллированной водой и высушивают на воздухе, предохраняя от попадания пыли.

Подбирают одинаковые стеклянные трубки диаметром 1,2 – 1,7 см, длиной на 2 – 4 см больше высоты сосуда. Вырезают из вдвое сложенной марли круги диаметром на 5 – 8 см больше диаметра сосуда.

Тарирование сосудов

В наиболее тяжелый сосуд из отобранных для данного опыта помещают битое стекло горкой, закрывающей около 2/3 дна, вставляют трубку, кладут марлю и взвешивают. При диаметре сосудов 15 см обычно достаточно 200 – 250 г стекла. Если стекла мало, то в дальнейшем будет затруднен полив. Все сосуды со стеклом должны быть одного и того же веса.

Пробная набивка сосуда

Отвешивают в тазу заведомо больше, чем нужно для набивки, количество песка. Прибавляют точно измеренное количество воды (около 40% от полной влагоемкости), хорошо перемешивают, перетирая песок между ладонями рук до тех пор, пока он не будет одинаковой влажности. Трубку для полива продевают в отверстие марлевого круга и устанавливают в дренажной горке сосуда так, чтобы она находилась примерно на 2 см от края сосуда. Расправляют марлю так, чтобы она покрыла дренаж и дно сосуда. Таз с песком и сосуд ставят на большой лист гладкой бумаги. Аккуратно кладут песок в сосуд на марлю, особенно следя за правильной укладкой у стенок сосуда. Прибавляют еще песок, уплотняя его тыльной стороной кисти руки, постепенно набивают сосуд. Нижние слои песка должны быть сильно уплотнены, верхние слои уплотняют не так сильно. Уровень песка в набитом сосуде должен быть на 1,5 – 2 см ниже верхнего края сосуда. Если песок не будет достаточно уплотнен, то при поливе он может осесть и при этом повредить корни. Степень уплотнения песка может влиять на рост растений, поэтому большое значение имеет равномерная набивка всех сосудов. Взвешивают остаток песка, его влажность и количество прилитой к нему воды, рассчитывают количество влажного, воздушно-сухого и абсолютно сухого песка в сосуде.

Определив вес абсолютно сухого песка в сосуде, рассчитывают и приготовляют растворы отдельных солей питательной смеси. Это производят так же, как при работе с водными культурами. В рецептах питательных смесей дозы солей даются на 1 л воды или на 1 кг абсолютно сухого песка. Если вносят нерастворимые соли, то их отвешивают в пакетики. Каждый пакетик этикетируется (указываются название соли, ее вес и номер сосуда, в который она должна быть внесена).

Набивка сосудов

Заготавливают таблицу схемы опыта с указанием серий, номера сосуда и количества предназначенных для внесения веществ.

Отвешенное для одного сосуда количество песка высыпают в большой эмалированный таз, стоящий на большом листе гладкой бумаги. Добавляют по очереди сухие навески, тщательно перемешивая песок и

перетирая его между ладонями рук, затем прибавляют растворы солей и воду для увлажнения песка. Сумма миллилитров растворов солей и воды должна быть одинакова во всех сосудах. После тщательного перемешивания песка сосуд набивают так, как указано выше. В сосуд должен быть внесен весь песок из таза, а также частицы песка, упавшие на бумагу и прилипшие к рукам. При набивке сосудов одной серии можно не мыть руки и таз, но при переходе к работе с сосудами, которые должны содержать иные питательные вещества, руки и таз мыть необходимо.

При набивке большого количества сосудов для ускорения работы целесообразнее объединяться в группы по три человека. Набивку песка в сосуды производит один человек, это гарантирует равномерность набивки; второй отвешивает песок и вносит соли и воду; третий перемешивает песок с водой и солями.

Если применяют стеклянные сосуды, то после набивки их обертывают картоном (лучше выкрасить его в белый цвет). Готовые сосуды закрывают листом картона для предохранения от высыхания песка.

Посев семян

Посев производят отобранными (если нужно, то протравленными) и наклюнувшимися семенами. Для посева на определенную глубину делают сажалку: стеклянную палочку вставляют в отверстие пробки, палочка выставляется из пробки на расстояние, равное глубине посадки семян. Кроме того, готовят картонный круг, диаметр которого равен внутреннему диаметру сосуда; в картоне делают отверстия по числу высеваемых семян. Их высаживают несколько больше числа растений, которое будет расти в сосуде.

Перед посевом песок поливают небольшим количеством воды, кладут на песок картонный шаблон, делают сажалкой углубления, высаживают семена, заравнивают песок. До появления всходов сосуды закрывают картоном.

Полив растений

Вначале (несколько дней) растения поливают во всех сосудах равным количеством воды, в дальнейшем – до 60 – 70% от влагоемкости абсолютно сухого песка. Зная вес абсолютно сухого песка в сосуде, рассчитывают, какое количество воды должно быть в нем. На этикетке сосуда пишут вес для полива. Он является суммой следующих величин: веса тарированного сосуда, веса абсолютно сухого песка, веса воды.

По мере роста растений к рассчитанной величине веса для полива прибавляют вес (сырой) растений в сосуде.

Ставя сосуд с растениями на весы и доливая водой до рассчитанного веса, производят полив. Часть воды дают сверху, часть – снизу через поливную трубку.

Уход и наблюдение за растениями. Ежедневно растения поливают по весу утром. По мере роста в жаркие и сухие дни растения нужно поливать дважды, внося вечером отмеренное количество воды цилиндром.

Через 7 – 10 дней после всходов производят прореживание, оставляя в сосуде наиболее одинаково выросшие растения.

Фенологические и другие наблюдения проводят так, как это указано в разделе *«Техника постановки водных культур».*

Техника постановки почвенных культур

При выборе почвы для вегетационного опыта необходимо заранее установить, на какой почве должен быть поставлен опыт для разрешения стоящей перед экспериментатором задачи, установить точное наименование почвы, указать, откуда взят образец, культурное состояние и историю участка, с которого взят образец (унавоживался ли и в какой степени, вносились ли на него минеральные удобрения, когда, какие и в каком количестве, из-под каких культур взят образец).

Нередко вегетационные опыты не дают нужных результатов вследствие неправильного *выбора почвы*. При неудачном взятии образца почвы может оказаться, что почва не реагирует на изучаемое удобрение. При постановке опыта по изучению фосфатных или калийных солей необходимо брать почву с участка, для которого уже имеются данные полевых опытов об отзывчивости почвы на применение этих удобрений. В крайнем случае, зная историю поля и его урожайность, можно ограничиться контрольными анализами на количество усвояемого фосфора и калия. На опытных станциях обычно нетрудно найти участок, отзывчивость которого на внесение удобрений уже известна, но, несмотря на это, часто берут почвы с защитных полос, дорожек между делянками, т.е. с тех участков, на которые в прошлом могли ссыпаться удобрения.

На поле почву берут лопатами в чистые мешки. Надо следить, чтобы во взятых для почвы мешках не было остатков удобрений: один случайно попавший комочек удобрения может испортить весь опыт. Если почву берут в большом количестве, то ее можно погружать навалом на подстеленный на машине брезент. Перевозить почву лучше всего в мешках. Количество необходимой для постановки опытов почвы определяют с учетом числа сосудов и их емкости. Так как при взятии, доставке и подготовке почвы для опытов происходят большие потери, то количество почвы, взятой в поле, должно быть не менее чем на 25% выше вычисленного на основании числа сосудов в предстоящих опытах и емкости их.

Доставку, хранение и разборку почвы надо организовать так, чтобы почва не успела высохнуть. Высыхание почвы приводит к изменению содержания в ней некоторых соединений питательных элементов, главным образом азота и фосфора. Опыт, поставленный с

влажной почвой, может поэтому дать другие результаты, чем опыт, поставленный с этой же почвой, но после ее высыхания.

Время взятия в поле почвы имеет существенное значение для ее свойств. В течение летнего периода в почве происходит нитрификация почвенного азота и иммобилизация растворимых фосфатов. Поэтому почва, взятая ранней весной, будет сильнее отзываться на азот и слабее на фосфор, чем почва, взятая с того же участка летом. Такое же значение имеет предварительное парование почвы в лабораторной обстановке. При постановке опытов с формами фосфатов можно брать паровавшую почву и заготовлять ее летом для опытов будущего года. При постановке опытов с азотными удобрениями желательно брать почву ранней весной, но во всяком случае не летом с парующих участков.

Весьма часто вегетационные опыты закладывают с почвами, которые берутся с опытных делянок. Если в опыте делянки малого размера, почву приходится брать в небольшом количестве и опыт закладывать в малых сосудах. С опытных делянок почву берут по тем же правилам, как и среднюю пробу почвы для анализа, т. е. из разных мест делянки на глубину пахотного слоя. Совершенно недопустимо брать почву с делянок, только что получивших минеральное или органическое удобрение. В этом случае свойства почвы будут целиком зависеть от того, попадут случайно во взятую почву комки удобрения или нет. Лишь после неоднократной обработки удобренного участка взятый с него образец почвы может характеризовать свойства почвенного покрова делянки.

Подготовка почвы для опытов заключается в приведении ее в однородную по своему составу и свойству массу и состоит из перемешивания почвы, пропускания ее через сито и удаления камней, корней и пожнивных остатков. В практике опытного дела принято однократное пропускание почвы через сито с отверстиями в 3 мм. Лучше брать проволочное сито (производительность его больше), чем металлическое сито с круглыми отверстиями. Операция просева производится следующим образом. Почву высыпают из мешков на сита, стоящие на стойках над брезентом. Крупные комки почвы раздавливают руками, отбирают корни, пожнивные остатки, комки и т. п. Оставшиеся на ситах включения по мере их накопления сбрасывают в сторону. Просеянную почву ссыпают в лари для хранения. В большинстве случаев такой однократной обработки достаточно, чтобы иметь удовлетворительное схождение параллельных опытов. В тех случаях, когда желают иметь большую однородность образца почвы, перед началом опыта берут необходимое число ведер уже разработанной почвы, высыпают на чистый брезент, тщательно перелопачивают, затем равномерно распределяют по брезенту и, беря лопатой почву из разных мест, насыпают в ящик, из которого потом ее берут при набивке сосудов. Контролем однородности почвы

может служить наличие одинаковых расхождений между урожаями в параллельных сосудах при их набивке подряд и после набивки сосудов других вариантов.

Техника набивки сосудов, посев и уход за растениями такие же, как при постановке песчаных культур. Почва как субстрат для выращивания растений естественно отличается от песка, поэтому в наполненные почвой сосуды следует до посева или сразу после посева засыпать сверху слоем кварцевого песка не более 1 см толщиной около 200 г на сосуд среднего размера. Слой кварцевого песка сверху сосуда предохраняет почву от излишней потери влаги, уменьшая испарение воды с поверхности сосудов, и от размывания поверхности почвы при поливке сверху.

Удобрения в вегетационном опыте можно вносить или в виде растворов, или в виде порошков и гранул. Если не имеется каких-либо специальных заданий, удобрения вносят в растворе. Наиболее удобны растворы, в которых на каждые 10 $см^3$ приходится 0,1 г питательного вещества (N, P_2O_5 или K_2O). Растворы, если их вносят менее чем по 50 $см^3$, отмеривают пипеткой или бюреткой; при внесении 50 $см^3$ и более для дозировки растворов можно употреблять мерные цилиндры. Величина доз удобрений зависит от темы опыта, размера сосудов и вида растения. Как правило, при постановке опытов в почвенных культурах для обеспечения нормального развития растений приходится заботиться лишь о добавке азота, фосфора и калия.

В опытах с почвенными культурами в качестве основного удобрения (фона) следует выбирать соли, не вызывающие сильных изменений свойств почвы. Удобрения, вносимые в почву в качестве фона, должны возможно меньше изменять реакцию почвы и концентрацию почвенного раствора, а также не содержать балластных веществ. Если требуется фон одного азота, можно остановиться на внесении азотнокислого аммония: последний, правда, вызывает некоторое подкисление почвы, не имеющее практического значения. При постановке опытов на кислых песчаных почвах можно рекомендовать смесь, состоящую из двух третей азота в виде NH_4NO_3 и одной трети азота в виде $Ca(NO_3)_2$.

Для создания фона NK можно брать смесь NH_4NO_3 + KNO_3, в которой количество KNO_3 устанавливается по потребной дозе калия.

В качестве фона NP для почв черноземного типа можно применять смесь из NH_4NO_3 и моно- и диаммонийфосфатов, являющуюся биологически кислой. Для подзолистых почв можно остановиться на смеси $Ca(NO_3)_2$ + $NH_4H_2PO_4$, т.е. физиологически кислого моноаммонийфосфата и физиологически щелочной кальциевой селитры. Для фона PK наиболее подходящей является смесь моно- и дикалийфосфатов. Количество моно- и дикалийфосфатов в этой смеси подбирают такое, чтобы pH смеси было близко к pH почвы. Если последнее нельзя сочетать

с желательными дозировками K_2O и P_2O_5, то добавку фосфатов можно делать в форме кальциевого фосфата, а калия – в виде KCl или K_2SO_4.

Фон одного фосфата, который обычно создается в опытах с внесением натриевых фосфатов, во многих случаях рекомендовать нельзя, так как внесение в почву натрия оказывает сильное действие на эффективность калия. Поэтому часто приходится останавливаться на кальциевых фосфатах: монокальцийфосфате, дикальцийфосфате или на их смеси. Внесение натриевых фосфатов может быть рекомендовано, когда добавка натрия не влияет на результаты опытов. В этом случае интересным является применение не чистых однонатриевых и двунатриевых солей, а их смесей, дающих pH, близкий к pH почвы.

При выборе форм основного удобрения и их дозировок надо тщательно продумать, какое действие на изменение свойств почвы окажут вносимые удобрения. При неосторожном выборе форм удобрений легко получить результаты, определяющиеся не столько свойствами почвы, сколько свойствами фона.

При постановке опытов на известкованных почвах в состав фона для ряда растений – свеклы, льна, горчицы, гречихи, табака, бобовых – надо вводить бор в форме борной кислоты или буры в количестве 1 мг бора на 1 кг почвы. Без внесения бора на известкованных подзолистых почвах нельзя получить нормальное развитие этих растений. Под зерновые злаки вносить бор излишне.

Что касается ***доз питательных веществ***, то для получения высоких урожаев растений в сосудах 20 × 20 *см* К.К. Гедройц считал достаточным 0,75 *г* *N*, 0,5 *г* P_2O_5 и 0,5 *г* K_2O; количества эти должны изменяться в зависимости от вида растения и темы опыта; применение удвоенных доз дает дальнейшее повышение урожаев.

При больших дозах вредное действие высокой концентрации солей можно уменьшить через трубку, а другую вносят поливом сверху, применяя дробное внесение удобрений, которое практикуется также в опытах по изучению времени внесения удобрений. Во время вегетации удобрения вносят при поливе в растворенном виде. Обычно половину вносимого количества удобрений вливают на дно сосуда.

Обычно поливку растений производят, давая половину воды сверху и половину – снизу. Во многих опытах можно поливать почвенные культуры не дистиллированной, а водопроводной водой. Обычно поливку сосудов по весу производят один раз в день. В жаркие дни поливать сосуды приходится два и даже три раза в день; в этом случае один раз поливают сосуды по весу и другой – по объему, давая на каждый сосуд определенное количество воды.

Вес, до которого надо поливать сосуды, вычисляют следующим образом. Предположим, что полная влагоемкость почвы 55,0%, максимальная гигроскопичность 8,2%, поливка намечена до 60% от полезной

влагоемкости. Следовательно, влажность почвы должна быть равна $(55,0 + 8,2) \cdot 0,6 = 37,9\%$.

Влажность почвы при набивке сосудов была равна 15,2%, в сосуд вошло 5 кг сырой почвы или 4,340 кг абсолютно сухой почвы. Вес тары до набивки (общий вес пустого сосуда, битого стекла, трубочки, марли и кварцевого песка, добавленного на дно сосуда) был равен 2100 г. Вес картонного чехла (если сосуд стеклянный) 60 г. Вес палочек 40 г плюс вес кварцевого песка, добавляемого сверху почвы, 200 г. Таким образом, общий вес набитого сосуда без веса воды и почвы 2400 г, вес почвы – 4340 г, вес воды – 37,9% от 4340, или 1645 г. Следовательно, сосуд надо поливать до (2400 + 4340 + 1645) = 8385 г; округляя, имеем 8400 г.

При поливке сосудов производят их перестановку на вагонетке для выравнивания условий освещения и нагревания солнечным светом. Если сосуды опыта стоят в два ряда, то при поливке их меняют местами. Необходимо перемещать сосуды и по длине вагонетки; для этого каждый раз два первых сосуда снимают и ставят вместо последней пары, а на их место ставят сосуды второй пары. Если в опыте много сосудов, то перестановку производят на две пары сосудов. Правильным следует считать такое размещение, когда сосуды стоят по повторностям, а не по вариантам опыта.

ЛИЗИМЕТРИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Лизиметрический метод, основанный на исследовании роли атмосферных осадков в трансформации почвенных компонентов и питании растений, был впервые применен английским ученым Джоном Дальтоном. Его работы относятся к концу XVIII – началу XIX в. Прибор, использованный Дальтоном для изучения водного режима почвы, был назван лизиметром (от греческого lysos – растворение, освобождение).

В агрохимии лизиметрические исследования применяют для наблюдения над динамикой влажности почв, просачивания атмосферных осадков, для определения состава фильтрующихся вод. Лизиметрический метод позволяет изучать динамику вымывания минеральных солей из почвы, включая компоненты минеральных удобрений.

Лизиметрические исследования позволяют вскрыть связи между питательными веществами почвы, удобрениями и растениями. Сопоставление поступления питательных веществ в почву с выносом их урожаем дает возможность подойти к установлению баланса этих веществ в почве. Кроме того, лизиметрический метод применяется для изучения изменения некоторых свойств почвы под влиянием удобрений (например, водопроницаемости), определения транспирационных коэффициентов отдельных растений (в природной обстановке). Лизиметрические установки используют также в орошаемом земледелии при изучении водного

баланса, промывки засоленных почв, поливных режимов сельскохозяйственных культур. Принцип лизиметрического исследования применяют часто в лабораторных условиях для установления закономерностей передвижения воды и растворенных в ней веществ через определенный слой почвы, торфа, при изучении водонепроницаемости почв, скорости фильтрации почв в зависимости от различных факторов для выявления закономерностей передвижения удобрений в почве. Все это имеет существенное значение при разработке рациональных приемов использования удобрений.

Существует несколько конструкций лизиметров, отличающихся устройством приспособлений для изучения просачивания воды и растворенных в ней веществ сквозь толщу почвы, породы или грунта под влиянием увлажнения атмосферными осадками.

Слой почвы, через который просачивается вода в лизиметре, колеблется от 20 – 25 см до нескольких метров, но наиболее распространенные типы конструкций лизиметров рассчитаны на работу со слоем почвы 1 м.

При устройстве и расположении лизиметров с необходимыми вспомогательными приспособлениями следует учитывать следующие обязательные требования.

1. Должна быть обеспечена возможность вести наблюдения в условиях, наиболее близких к природной обстановке. Для этого лизиметры вкапывают в грунт, и уровень почвы в них совпадает с поверхностью окружающей местности.

2. Для проведения сравнительных исследований или постановки опытов в лизиметрах по определенной схеме их устраивают группами в 10 и более, чаще всего в два ряда с некоторым расстоянием между рядами. Например, в лизиметрах иногда изучают целые севообороты. Непосредственно около лизиметров устанавливают дождемеры для учета количества выпавших осадков.

3. Для сбора просачивающихся через почву лизиметра воды на дне приборов делают дренаж, затем короткие трубопроводы, по которым стекающие воды поступают в специальные приемники, находящиеся в подземном коридоре с естественным или искусственным освещением, позволяющим вести работу круглосуточно. Подземное помещение тщательно изолируют, чтобы исключить резкие колебания температуры (особенно зимой) и попадание в него атмосферных осадков.

4. Лизиметры в зависимости от темы опыта могут быть парующими или занятыми различными растениями. В них возможно выращивание и древесных пород. Располагать лизиметры надо так, чтобы обеспечить нормальное освещение растений и защиту посевов от повреждений животными и птицами. Иногда над лизиметрами делают сетки, как в вегетационных домиках.

5. Лизиметры устанавливают вблизи от лабораторий, чтобы не перевозить больших объемов жидкости и проводить срочные наблюдения в любое время суток и в любую погоду.

По способу наполнения почвой лизиметры подразделяют на два типа:
1) лизиметры с почвой естественного строения
2) лизиметры с насыпной почвой.

В последнем случае естественное строение нарушается, однако почву после просеивания для придания ей однородности, набивают послойно с сохранением естественной последовательности в расположении отдельных генетических горизонтов. При набивке уплотняют каждый слой почвы до природного объема.

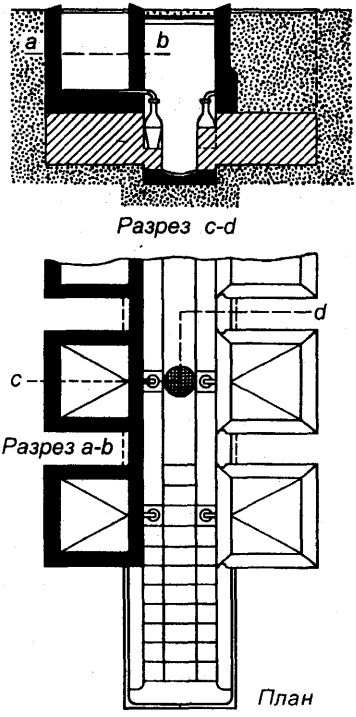
По особенностям конструкции лизиметры делят на:
1) бетонные или кирпичные,
2) металлические, в частности цинковые,
3) лизиметрические воронки (Эбермайера).

В последние годы получают распространение лизиметры из пластика.

Бетонные или кирпичные лизиметры устраивают для проведения многолетних опытов. Эти лизиметры рассчитаны на использование в течение длительного времени. Как правило, они имеют площадь поверхности в 1, 2 и даже 4 м^2.

Рис. 37.

Лизиметры Сельскохозяйственного института в Новой Александрии: вертикальный разрез по c – d, план и горизонтальный разрез по a – b



Одни из первых лизиметров в России были построены в Сельскохозяйственном институте в Новой Александрии (1903 г.) по проекту П.Ф. Баракова. Они сделаны из бетона и расположены в два ряда по 12 лизиметров. Емкость каждого 1 м^3 (1×1×1 м). Эти лизиметры показаны на рис. 37. Они расположены на расстоянии 0,5 м один от другого, их передние стенки выходят в подземный коридор, и между ними поставлены бетонные стенки.

Между боковыми стенками пространство заполнено землей. Для стока просачивающейся сквозь почву лизиметра воды дно его имеет уклон в сторону передней стенки, и по дну от углов задней стенки проложены две борозды к середине нижней части передней стенки, где находится отверстие, соединенное свинцовой трубкой сечением 2 см с приемниками. Последние помещены в подземном коридоре и могут по мере наполнения заменяться другими. Для улучшения стока на дне каждого лизиметра сделан дренирующий слой из гравия разного диаметра.

Бетонные лизиметры пригодны для работы только с насыпной почвой. Их используют для постановки стационарных опытов с различными растениями, удобрениями и типами почв во многих научно-исследовательских учреждениях разных стран.

Металлические лизиметры бывают разной формы (цилиндр, куб, параллелепипед) и емкости. Они применяются для работы с почвами как естественного сложения, так и с насыпными. В опытах с насыпной почвой используют лизиметры цилиндрической формы и в форме параллеле-пипеда, сделанные из листовой оцинкованной стали, иногда изнутри покрытой асфальтовым лаком. На дне их делают, как и в бетонных лизиметрах, дренаж из гравия и песка. Наполненные почвой лизиметры либо непосредственно закапывают в грунт так, чтобы поверхность почвы в них была на одном уровне с поверхностью окружающей местности, либо помещают в другой металлический цилиндр или ящик немного большего диаметра, вкопанный в грунт. В этом случае внешний служит для укрепления стенок ямы, а внутренний – собственно лизиметром.

Выемные лизиметры устраивают для того, чтобы их можно было извлекать из ямы и взвешивать. Во всех случаях в дне лизиметра сделано отверстие, соединенное системой трубок с приемником для сбора фильтрата.

Для взятия образцов почвы без заметного нарушения ее естественного строения лизиметры цилиндрической формы имеют заостренные концы у дна и врезаются в почву при их наполнении. Дно воронкообразной формы заполняют дренажным материалом и после наполнения лизиметра почвой прикрепляют к нему. Затем лизиметр переносят на постоянное место и соединяют системой трубок с приемником.

Примером может служить лизиметр А.В. Ключарева. Это тонкостенный стальной цилиндр диаметром 11 см и глубиной 20 см. Снизу к цилиндру, заполненному почвой естественного сложения, герметически прикреплено дно в форме цинковой воронки, в которой помещен дренирующий материал. Для сбора фильтрата служит делительная воронка, соединенная с прибором пробкой с трубками. Чтобы эти лизиметры поместить в грунт, в него предварительно зарывали до краев

другие тонкостенные железные цилиндры высотой 50 см, открытые с обоих концов. Диаметр их был таков, что стальные цилиндры как раз входили в них. Лизиметры с почвой и воронками опускали в эти железные цилиндры и удерживали на крючках. Зазоры между железным цилиндром и лизиметром закрывали специальными цинковыми защитными щитками.

Лизиметрические воронки используют только для работы с почвами естественного строения. Эти конструкции были впервые применены Эбермайером в 1879 г. Считают, что металлические цилиндрические лизиметры при врезании в грунт все же частично нарушают естественное сложение. Этот вид лизиметра не имеет боковых стенок. Схема устройства лизиметрических воронок Эбермайера приведена на рис. 38.

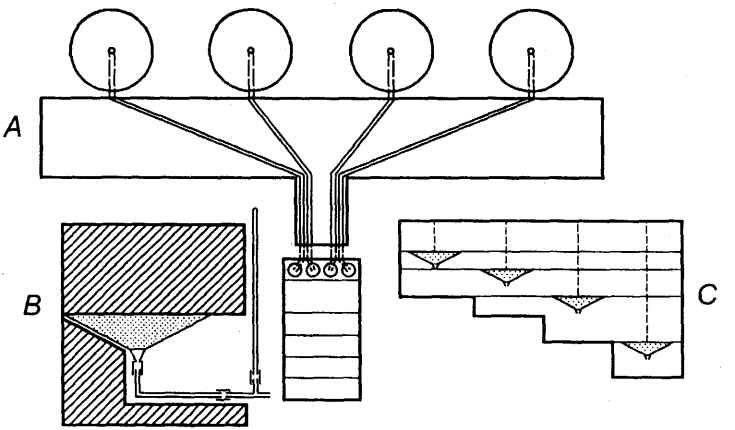


Рис. 38. Лизиметрические воронки Эбермайера:
А – план, В – разрез одного лизиметра воронки,
С – схема расположения воронок на различной глубине

Устройство воронок следующее. Цинковые воронки диаметром 25 или 50 см имеют глубину 5 см. Края их загнуты на 0,5 см вверх и заострены. Шейка прикрыта цинковым кружком с отверстиями 2 мм. Заполнена воронка дренирующими материалами. Для установки воронок Эбермайера вырывают достаточно глубокую траншею и на передней вертикальной стенке ее делают ниши на той глубине, на какой хотят поместить воронки. Их вводят в нишу и врезают острым краем в ее потолок. Воронки трубками соединяют с приемниками, размещенными на некотором расстоянии от ниш. Сверху траншею закрывают досками и цементом и засыпают землей. Делают люк с крышкой, чтобы можно было спускаться в яму к приемникам. В нишах все эти пустоты снова засыпают землей. Расстояние между воронками 30 – 100 см.

Отсутствие боковых стенок у воронок не дает уверенности в том, что в нее будет просачиваться вода только с площади, находящейся строго вертикально над воронкой. Возможно как затекание воды со стороны, так и отток влаги на соседние участки, Поэтому в опытах для изучения вымывания питательных веществ из разноудобренных почв нельзя ставить лизиметрические воронки на делянки с различными удобрениями близко по соседству; нужно оставлять между ними интервалы наподобие защитных полос в полевых опытах.

Водный режим лизиметров. Опыты в лизиметрах должны полностью воспроизводить условия природной обстановки. Это в полной мере относится и к водному режиму.

Одинаковый водный режим лизиметров и почв в окружающих естественных условиях может быть только в том случае, когда динамика всех категорий воды в почве лизиметра совпадает с динамикой влаги в природной почве.

Экспериментальные исследования показали, что наблюдается ряд моментов, которые отличают водный режим лизиметров от водного режима естественных почв.

Почвы в лизиметрах со стенками отличаются от естественных почв количеством осадков, попадающих на площадь, равную площади лизиметра. Так как стенки лизиметра немного выше уровня почвы в нем, то все осадки, попавшие на данную площадь, должны пройти через почву. В природных условиях, как правило, в среднем 20 – 25% воды сбегает с поверхности по уклонам рельефа. Следовательно, в лизиметры со стенками осадков попадает больше, чем в естественных условиях. В лизиметрических воронках этого различия не наблюдается.

Изучение поведения разных форм почвенной влаги в лизиметрах по сравнению с естественной почвой показало, что наблюдаются существен-ные различия в их динамике. Это связано в первую очередь с разрывом слоев почвы, обусловленным наличием дна у лизиметров. Этот разрыв приводит к появлению воздушной прослойки, которая мешает свобод-ному движению гравитационной воды вниз. Как правило, в лизиметрах мы отмечаем избыток влажности, задержку известного количества воды и, следовательно, неполное просачивание по сравнению с тем же слоем естественной почвы.

Наблюдения показали, что просачивание воды в лизиметры зависит от их глубины. В более глубоких лизиметрах оно относительно больше, чем в мелких.

Так как количество осадков, попадающих на одинаковые по площади лизиметры, будет одно и то же, а влажность оказывается в глубоких лизиметрах большая в слоях, лежащих ближе ко дну, а у мелких лизиметров в поверхностных слоях, то испарение более интенсивно происходит с поверхности мелких лизиметров, чем с поверхности глубоких.

Следовательно, это приводит к новому различию в балансе воды в лизиметре и в естественной почве. Встречая препятствие при нормальном просачивании влаги в глубоколежащие слои, какое-то количество ее теряется из-за более интенсивного испарения с поверхности лизиметра, чего не наблюдается в почвах при естественных условиях их залегания.

При работе с воронками Эбермайера эти же причины еще больше снижают коэффициент просачивания, так как возрастающее капиллярное давление на уровне воронки, т.е. подпор просачивающейся сверху воды, обусловливает отток опускающихся осадков в стороны. Отсутствие в лизиметрических воронках боковых стенок у столба почвы, находящегося над воронкой, не препятствует этому оттоку влаги в стороны.

Все сказанное указывает на очень низкий коэффициент просачивания в лизиметрических воронках: он тем меньше, чем глубже находится воронка.

Количество просачивающейся влаги зависит также от:

1) способа наполнения лизиметра: просачивание идет интенсивнее в почвах, сохранивших естественное строение, так как в насыпных лизиметрах почва уплотняется;

2) свойств почвы (чем она мелкоземистее, тем меньше просачивание);

3) количества осадков и характера их распределения во времени (много осадков за короткий отрезок времени обусловливает более сильное просачивание);

4) температуры воздуха и почвы (чем выше температура, тем больше испарение и тем меньше просачивание);

5) наличия растений; в лизиметрах, занятых растениями, просачивание меньше, чем в парующих вследствие испарения влаги растениями.

Таким образом, динамика влаги в лизиметрах нетождественна с динамикой влаги в естественных почвах. Тем не менее это не лишает ценности результаты, найденные с использованием лизиметрической методики. Следует только помнить, что абсолютные значения этих результатов будут отличаться от данных, получаемых в естественной обстановке. Однако проведение опыта по одной конкретной схеме на лизиметрах определенной конструкции позволяет иметь сравнимые относительные результаты в пределах этой схемы.

Агрохимики используют лизиметрический метод прежде всего для учета вымывания питательных веществ из почвы. Поскольку оно непосредственно связано с просачиванием, то естественно, что количества питательных веществ, найденные в опытах с лизиметрами, будут зависеть в значительной степени от конструкции лизиметра, его глубины, наличия растений, времени наблюдения и ряда других факторов, влияющих на величину коэффициента просачивания.

ОСНОВЫ СТАТИСТИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКИ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЙ

Статистическую обработку результатов опыта производят для установления точности опыта. Ошибка среднего арифметического показывает, с какой степенью точности мы можем судить по величине найденного в опыте среднего о величине того истинного среднего, которое было бы получено в результате суммирования бесконечно большого числа параллельных определений. Согласно кривой нормального распределения всех возможных случаев, можно утверждать, что истинное среднее будет находиться в промежутке между $M + m$ и $M - m$ в 68,3% всех возможных случаев, в промежутке между $M + 3m$ и $M - 3m$ в 99,73% всех возможных случаев, или, говоря другими словами, мы имеем 9973 шанса из 10 000 за то, что наше среднее не отклоняется от истинного больше чем на $\pm 3\ m$. Например, если для урожая по NPK мы получили средний урожай в 45,7 ц, а ошибка среднего была 0,6 ц, то истинный урожай по NPK с достоверностью в 99,73% не разнится от 45,7 больше чем на $\pm 3\ m = \pm 1{,}8$ ц. Следовательно, наш вывод, что истинный урожай по NPK, который мы получили бы при большом числе повторений, находится в пределах $M \pm 3m = 45{,}7 \pm 1{,}8$, или, что то же, в промежутке между 43,9 – 47,5 ц, имеет большую достоверность. Наоборот, если бы мы стали считать, что истинное значение находится в пределах $M + m = 45{,}7 \pm 0{,}6$ или между 45,1 и 46,3 ц, то в 31,7% всех случаев наше суждение было бы ошибочно. Следовательно, чем больше будет допускаемый нами возможный размер отклонения от среднего, тем достовернее будет наше суждение. Степень же точности нашего определения среднего будет зависеть от величины ошибки среднего. Если бы в нашем опыте ошибка среднего была равна $\pm 0{,}1$ ц, то в пределах 45,4 – 46,0 ц находилось бы 9973 из 10 000 возможных случаев. Таким образом, степень точности нашего опыта зависит от величины ошибки среднего, а достоверность наших суждений – от того, во сколько принятый нами размер возможного отклонения истинного результата от среднего будет превышать ошибку последнего. Обычно считают, что истинный результат достаточно точно характеризуется промежутком $M \pm 3m$ (тройная ошибка называется иногда предельной ошибкой среднего). Число, показывающее, во сколько раз установленный предел отклонения от среднего больше его ошибки, обозначается буквой t; чем больше t, тем достовернее наше суждение. В табл. 49 показана зависимость достоверности наших суждений от принятого при анализе результатов предельного отклонения от среднего, выраженного в частях m.

В большинстве опытов приходится не столько устанавливать абсолютные размеры урожая по тому или другому варианту опыта,

сколько определять достоверность разности между средними для различных вариантов. Достоверность разности между двумя средними определяется величиной *t*, которая показывает, во сколько раз разность больше своей ошибки.

Обозначая разность через *D*, имеем: $$t = \frac{D}{m_D}$$

49. Вероятность нахождения истинного результата за пределами M+tm (в % от возможного числа случаев) при числе наблюдений больше 30

Предел отклонения от среднего в долях *m*, *t*	Вероятность нахождения за указанными пределами, %	Предел отклонения от среднего в долях *m*, *t*	Вероятность нахождения за указанными пределами, %
0,50	61,7	2,33	2,00
0,67	50,1	2,50	1,20
0,75	45,3	2,58	1,00
1,00	31,7	2,75	0,56
1,25	21,1	3,00	0,10
1,50	13,4	3,29	0,10
1,75	8,0	3,89	0,01
2.00	4,5	4,42	0,001
2,25	2,4	4,89	0,0001

Когда ошибка разности равна самой разности, истинное значение разности между двумя средними, согласно кривой нормального распределения показаний, выйдет за пределы $D \pm m_D$ в 31,7% всех возможных случаев, так как ошибка разности так же характеризует ее, как обычная ошибка среднего – свое среднее арифметическое. Но в одной половине возможных случаев истинное значение будет больше нашей эмпирической разности, а в другой половине – меньше. Если речь идет о достоверности разности между средними, т. е. ставится вопрос только о том, действительно ли урожаи по обоим сравниваемым вариантам отличаются друг от друга, то для характеристики достоверности разности имеют значение отклонения только в одном направлении – уменьшения разности между средними.

Предположим, что $M_1 - M_2 = m_D$, т.е. разность равна ошибке разности, $t = D/m_D = 1$; тогда (по табл. 48) 31,7% всех случаев будет находиться за пределами $D \pm m_D$, но только в половине из них (15,9%) разность между средними исчезнет или станет обратной. Следовательно, достоверность разности можно характеризовать не 68,3%, а 84,1%, так как в 84,1% всех возможных случаев M_1 будет больше, чем M_2. В табл. 48 приведены соответствующие данные достоверности разности средних; их легко можно вывести, из табл. 49, если учесть, что в данном случае имеет значение только одностороннее отклонение от среднего. Из табл. 49 видно, что если разность более чем вдвое превосходит свою ошибку, то по своей достоверности она уже заслуживает внимания, поэтому в

полевых и вегетационных опытах обычно довольствуются двойной ошибкой разности средних в качестве показателя достоверности суждений, имея 95% вероятности, которая получается при $t = 1{,}64\ m_D$.

50. Достоверность разности двух средних
(в % от общего числа возможных случаев) при числе наблюдений больше 30

D/m_D	%	D/m_D	%	D/m_D	%	D/m_D	%
0,2	57,9	0,8	78,8	1,4	91,32	2,0	97,73
0,3	61,8	0,9	81,3	1,5	93,77	2.1	98,21
0,4	65.5	1 ,0	84,1	1,6	94,52	2,2	98,61
0,5	69,2	1 ,1	86,4	1 ,7	95,54	2,4	99,18.
0,6	72,6	1,2	88,99	1.8	96.41	2,6	99,53
0,7	75,8	1,3	90,32	1,9	97,13	3,0	99,87

Таблица Стюдента и Фишера. Для оценки достоверности результатов опыта мы можем пользоваться табл. 49 и 50 только в тех случаях, когда ошибка опыта, или среднего арифметического, вычислена на основе обработки сравнительно большого числа данных, т.е. когда в опыте было более 30 делянок или сосудов и применялся обобщенный метод обработки результатов опыта. Если в опыте было небольшое число делянок или производилось вычисление ошибки среднего для каждого варианта опыта в отдельности, то следует пользоваться табл. 51, составленной Стюдентом и несколько видоизмененной Фишером. В этой таблице вероятность нахождения истинного результата в пределах $M \pm m$ поставлена в зависимость от числа наблюдений. В первом вертикальном столбце приведено число так называемых степеней свободы, равное для среднего арифметического $n - 1$, т. е. числу показаний урожаев делянок или сосудов, из которого выведено среднее, уменьшенному на единицу (так как, зная $n - 1$ показаний, последнее показание можно установить по разности, если известно среднее).

В верхнем горизонтальном ряду указана вероятность (в процентах) нахождения истинного результата за пределами $M \pm tm$. В средней части таблицы приведены величины t – коэффициенты, показывающие, во сколько раз принятое при анализе результатов опыта отклонение от среднего больше его ошибки. Например, если мы имеем средний урожай для четырех делянок ($n = 4$), равный 34,5 ц, и ошибка среднего ± 1,1 ц, то вероятность нахождения истинного результата за пределами $M \pm 3m$ (что соответствует значению $t = 3$), т. е. иначе в промежутке от 31,2 до 37,8 ц будет, как показывает табл. 49, около 5% (в таблице имеем для $n - 1 = 3$ значение t, близкое к 3, именно 3,18).

Если бы ошибка среднего была установлена на основе большого числа определений, то вероятность отклонения истинного результата за пределы $M \pm 3m$ была бы равна только 0,27%. Чтобы иметь подобную достоверность наших суждений при $n = 4$, нам надо размах возможных

колебаний среднего принять в $M \pm 10{,}24m$, или 34,5 ± 11,3 ц, так как вероятности в 0,27% при $n - 1$=3 соответствует t = 10,24. Таким образом, при четырехкратной повторности так называемая предельная ошибка среднего (т.е. ошибка при t = 3) должна быть принята равной не тройной ошибке, а десятикратной.

51. Таблица величин t. Определение вероятности (P) нахождения среднего значения вне предела M ± tm при малом числе наблюдений (n)

$n-1$	P, %						
	50	20	10	5	2	1	0,25
1	1,00	3,08	6,31	12,70	31,82	63,66	318,54
2	0,82	1,37	2,92	4,30	6,96	6,92	22,38
3	0,76	1,64	2,35	3,18	4,54	5,84	10,24
4	0,74	1,53	2,13	2,78	3,75	4,60	7,58
5	0,73	1,48	2,02	2,57	3,36	4,03	5,90
6	0,72	1,44	1,94	2,45	3,14	3,70	5,20
7	0,71	1,42	1,90	2,36	3,00	3,50	4,80
8	0,71	1,40	1,86	2,31	2,80	3,35	4,50
9	0,70	1,38	1,83	2,26	2,82	3,25	4,30
10	0,70	1,37	1,81	2,22	2,76	3,17	4,15
11	0,70	1,36	1,80	2,20	2,72	3,11	4,00
12	0,69	1,34	1,75	2,13	2,60	2,95	3,75
20	0,69	1,32	1,73	2,09	2,53	2,84	3,55
25	0,68	1,31	1,71	2,06	2,48	2,80	3,30
30	0,68	1,31	1,70	2,04	2,46	2,75	3,05
00	0,67	1,28	1,64	1,96	2,33	2,58	3,00

Этой же табл. 51 можно пользоваться и для установления достоверности разности между средними $M_1 - M_2$, т.е. для определения того, во скольких случаях из всех возможных M_1 будет больше M_2.

В данном случае имеют значение отклонения только в одну сторону, направленные к уменьшению разности между M_1 и M_2. При отклонении только в одну сторону, положительную или отрицательную, P в 2 раза меньше.

Пример. Разность между средними равна 6,6 г, повторность семикратная, ошибка разности 2,1 *г*, следовательно, T = 6,6/2,1=3,14.

При $n = 7$ по табл. 14 имеем P = 2%, т. е. в 2% всех случаев разность выходит за пределы ± 6,6 г. Исчезновение положительной разности между средними, т.е. отклонение за пределы разности 6,6 г, равно P/2 = 2% / 2 =1%, или одному случаю из 100 возможных.

В практике оценки результатов опытов установилась привычка брать для оценки достоверности разности двойную или тройную ошибку, не учитывая числа наблюдений, на основе которых выведена ошибка опыта. Из разобранных примеров видно, насколько последнее может иногда привести к неверным суждениям о достоверности результатов опыта.

Метод А.А. Сапегина. В практике сельскохозяйственного опытного дела широкое применение при обработке результатов полевого опыта имел у нас метод приведения А.А. Сапегина. Особенностью этого метода является то, что обрабатываются процентные отклонения от средних арифметических по вариантам. В основе его лежит предположение, что величина ошибки опыта пропорциональна величине урожаев. Экспериментальные данные не подтвердили этого предположения, но метод А.А. Сапегина дает в конце обработки очень удобную для оценки точности опыта процентную ошибку среднего (т.е. *m),* выраженную в процентах от среднего урожая для опыта: $P = 100m/M$. Этот показатель относительной точности исследования весьма удобен для сравнения различных опытов по степени их точности. С этой целью может быть применено вычисление ошибки среднего, выраженной в процентах от среднего урожая для всего опыта в целом: $m \cdot 100/ M_{опыта}$.

Метод анализа вариации Р.А. Фишера. Статистическая обработка результатов полевых опытов при наличии в опытах систематической ошибки, вызываемой неравенством исходного плодородия почвы, весьма сложна. Для устранения систематической ошибки полеводы применяют не только различные приемы статистической обработки результатов полевого опыта, но и различные приемы размещения в поле опытных делянок, что, в свою очередь, накладывает свой отпечаток на приемы статистической обработки результатов. Постановка полевых опытов с большим числом вариантов в условиях изменчивого плодородия почвы – весьма сложная методическая задача, различно решаемая в многочисленных работах полеводов-опытников и математиков. Мы здесь даем анализ точности простого полевого опыта, имеющего небольшое число вариантов и поставленного на достаточно выровненном по плодородию участке.

Кроме установления точности опыта и степени достоверности наших суждений обработка результатов опыта помогает определить пригодность его для решения поставленной задачи. Пригодность опыта определяется прежде всего правильностью составления схемы опыта и выбором надлежащих условий для его проведения. Достоверность разности между контрольными вариантами и служит одним из показателей пригодности опыта для решения данной задачи. Например, если опыт ставится с целью определения эффективности различных новых форм азота, то контрольными вариантами в опыте являются

варианты без азота и с внесением стандартного азотного удобрения. Если между этими вариантами имеется достоверная разность, опыт пригоден для решения поставленной задачи, если нет, то результаты опыта не могут быть использованы. Если в условиях опыта растения вообще не нуждались в азоте, то изучать в этих условиях эффективность новых азотных удобрений не следует. Таким образом, пригодность опыта (его репрезентативность) определяется путем вычисления D/m_D для контрольных вариантов схемы опыта.

В практике Ротамстедской сельскохозяйственной опытной станции в Англии и отчасти на опытных станциях США получил распространение метод, разработанный Р.А. Фишером и названный им анализом вариации (рассеяния, дисперсии). В практике сельскохозяйственного опытного дела России этот метод, несмотря на проявленный к нему в свое время большой интерес, не получил большого распространения.

При обработке результатов опыта по методу анализа вариации (рассеяния) сначала находят средний урожай в опыте, затем вычисляют отклонения от него всех урожаев отдельных делянок. Эти отклонения возводят в квадрат и находят их сумму, которая соответствует общей вариации (рассеянию) опыта. Далее вычисляют средние урожаи для вариантов, их отклонения от среднего урожая, квадраты отклонений и их сумму. Последнюю умножают на число повторений. Полученная величина характеризует изменение урожаев в зависимости от вариантов. Затем определяют средние урожаи по повторениям, их отклонения от среднего урожая для опыта, квадраты этих отклонений и их сумму, которая после умножения на число вариантов дает величину, характеризующую варьирование урожаев, вызываемое различным плодородием повторений. Вычитая из суммы квадратов, характеризующей общее рассеяние в опыте, величины, найденные для рассеяния вариантов и повторений, находят величину суммы квадратов, соответствующую случайным отклонениям, или остаточное рассеяние (вариацию) в опыте.

Вычисление величин, характеризующих рассеяние общее, вариантов повторений и случайное, может идти с использованием квадратов не отклонений, а квадратов величин урожаев по делянкам, по повторениям и по вариантам, но это целесообразно только при наличии счетных машин.

Полученные суммы квадратов следует соответственно разделить на число степеней свободы для вариантов на $(l-1)$ и для повторений на $(n-1)$ и для случайного рассеяния на $(n-1) \times (l-1)$. После деления сумм квадратов на число степеней свободы получаем средние квадраты.

Отношение среднего квадрата вариантов к среднему квадрату случайного рассеяния и является критерием точности опыта и его пригодности для решения поставленного вопроса. При этом используются таблицы Снедекора, в которых указывается, при каком отношении

средних квадратов изменение урожаев, вызываемое вариантами, имеет вероятность в 95 или 99% (см. табл. 52 и 53).

52. Таблица величин для вероятности в 95% по Снедекору

n_2*	Число степеней свободы большего среднего квадрата (n_1)											
	1	2	3	4	5	6	7	8	12	20	40	00
6	5,99	5,14	4,76	4,53	4,39	4,28	4,21	4,15	4,00	3,87	3,77	3,67
7	5,99	4,74	4,35	4,12	3,97	3,87	3,79	3,73	3,57	3,44	3,34	3,23
8	5,32	4,46	4,07	3,84	3,69	3,58	3,50	3,44	3,28	3,15	3,05	2,93
9	5,12	4,26	3,86	3,63	3,48	3,27	3,29	3,22	3,06	2,93	2,82	2,71
10	4,97	4,10	3,71	3,48	3,33	3,22	3,14	3,07	2,91	2,77	2,67	2,54
11	4,84	3,99	3,59	3,36	3,21	3,10	3,01	2,95	2,79	2,65	2,53	2,40
12	4,75	3,89	3,49	3,26	3,11	3,00	2,92	2,85	2,69	2,54	2,42	2,30
13	4,67	3,81	3,41	3,18	3,03	2,92	2,84	2,77	2,61	2,46	2,34	2,21
14	4,60	3,74	3,34	3,11	2,96	2,85	2,77	2,70	2,54	2,39	2,27	2,13
15	4,54	3,68	3,29	3,05	2,90	2,79	2,70	2,64	2,48	2,33	2,21	2,07
16	4,49	3,63	3,24	3,01	2,85	2,74	2,66	3,59	2,42	2,28	2,16	2,01
18	4,41	3,55	3,16	2,93	2,77	2,66	2,58	2,51	2,34	2,19	2,07	1,92
20	4,35	3,49	3,10	2,87	2,71	2,60	2,52	2,45	2,28	2,12	1,99	1,84
22	4,30	3,44	3,05	2,82	2,66	2,55	2,47	2,40	2,23	2,07	1,93	1,78
24	4,26	3,40	3,01	2,79	2,62	2,51	2,43	2,36	2,19	2,02	1,89	1,73
26	4,22	3,37	2,97	2,74	2,58	3,47	2,39	2,32	2,15	1,99	1,85	1,69
30	4,17	3,32	2,92	2,69	2,53	2,42	2,34	2,27	2,08	1,93	1,79	1,62
00	3,84	2,99	2,60	2,37	2,21	2,09	2,01	1,94	1,75	1,57	1,40	1,00

n_2* — число степеней свободы меньшего среднего квадрата.

Пример использования анализа вариации приведен далее при обработке результатов полевого опыта.

При работе методом анализа вариации данные для всего опыта обрабатывают совместно, так как этот метод такой же обобщенный, как и описанный ранее. Далее, и в том и в другом методе при анализе вариации все вычисления производят с абсолютными величинами отклонений. В результате вычислений оба метода дают одну и ту же величину суммы квадратов случайных отклонений; только в одном случае они определяются непосредственно, а при анализе вариации — по разности. Исклю-чение влияния изменения плодородия почвы по повторениям опыта в том и другом случае производится на основе одного и того же принципа. Существенное различие между обоими методами заключается в том, что в одном случае устанавливается ошибка опыта, т. е. ошибка разности между двумя средними, а в другом — критерий Фишера,

характеризующий, во сколько раз отклонения между вариантами больше случайных.

53. Таблица величин F для вероятности в 99% по Снедекору

n^2*	Число степеней свободы большего среднего квадрата (n_1)											
	1	2	3	4	5	6	7	8	12	20	40	00
6	13,7	10.9	9,78	9,15	8,75	8,47	8,26	8,10	7,72	7,39	7,14	6,88
7	12,3	9,55	8,45	7,85	7.46	7,19	7,00	6,84	6,47	6,15	5,90	5,65
8	11,3	8,65	7,59	7,01	6,63	6,37	6.19	6,03	5,67	5,36	5,11	4,86
9	10,6	8.02	6,99	6,42	6,06	5,80	5,62	5,47	5,11	4,80	4,56	4,31
10	10.0	7,56	6,55	5,59	5,64	5,39	5,21	5,06	4,71	4,41	4,17	3,91
11	9,65	7,20	6,22	5,67	5,32	5,07	4,88	4,74	4,40	4,10	3,86	3,60
12	9,33	6,33	5,95	5,41	5,06	4,82	4,65	4,50	4,16	3,86	3,61	3,30
13	9,07	6,70	5,74	5,20	4,86	4,62	4,44	4,30	3,96	3,67	3,42	3,16
14	8,86	6,51	5,56.	5,03	3.69	4,46	4,28	4,14	3,80	3,51	3,26	3,00
15	8,68	6,46	5,42	4,89	4,56	4,32	4,14	4,00	3,67	3,36	3,12	2,87
16	8,53	6,23	5,29	4,77	4,44	4,20	4,03	3,89	3,55	3,25	3,01	2,75
18	8,28	6,01	5,09	4,57	4,25	4,01	3,85	3,71	3,37	3,07	2,07	2,57
20	8,10	5,85	4,94	4,43	4,10	3,87	3,71	3,56	3,23	2,94	2,69	2,42
22	7,94	5.72	4,82	4.31	3.99	3,76	3,59	3,15	3,12	2,83	2.58	2,31
24	7,82	5,61	4,72	4,22	3,90	3,67	3,50	3,36	3,03	2,74	2,49	2,21
26	7,72	5,53	4,64	4,14	3,82	3,59	3,42	3,29	2,96	2,66	2,41	2,13
30	7,56	5,39	4.51	4.02	3,70	3,47	3,30	3,17	2,84	2,55	2,29	2,01
00	6,64	4,60	3,78	3,32	3,02	2,80	2,64	2,51	2,18	1,87	1,59	1,00

n^2* — число степеней свободы меньшего среднего квадрата

В основе этого метода лежит предположение, что опыт в том случае пригоден, когда различие между вариантами опыта больше, чем между урожаями параллельных делянок или сосудов. Если изменения в урожаях по делянкам, вызываемые случайными, неучитываемыми причинами, больше, чем изменения, вызываемые изучаемыми факторами, опыт считается непригодным для установления действия последних на урожай растений.

При обычной оценке достоверности опыта устанавливают, во сколько раз разность между средними для двух вариантов опыта превышает ее ошибку. Но в одном и том же опыте разности между различными парами средних обладают различной степенью достоверности в зависимости от величины разности. Критерий, предложенный Фишером, является попыткой однозначно характеризовать достоверность действия изучаемых факторов для всего опыта в целом.

Средние арифметические для вариантов опыта образуют ряд цифр, который характеризует действие изучаемых в опыте факторов. Установив для этого ряда цифр его квадратическое отклонение, мы можем сравнить его с квадратическим отклонением, характеризующим действие в опыте случайных причин.

Так как на изменении ряда средних по вариантам сказываются и случайные причины, то, если изучаемые факторы существенно сказались на высоте урожаев, квадратическое отклонение для средних по вариантам должно быть достоверно больше, чем квадратическое отклонение, характеризующее действие случайных, неучтенных причин. Но в некоторых случаях применение критерия Фишера не дает правильных результатов, так как он учитывает изменчивость между всеми вариантами опыта, тогда как для определения пригодности опыта необходимо учитывать различие только между определенными контрольными вариантами опыта.

При постановке опыта все варианты схемы опыта можно разбить на два вида: контрольные, которые показывают чувствительность в опыте растений к изучаемому фактору, и испытуемые. Между последними может и не быть никакого расхождения, в результате чего уменьшится основное отклонение изменчивости по вариантам при наличии в опыте сильного действия изучаемого фактора. Например, изучая различные формы новых растворимых фосфатов, мы, имея опыт с громадной чувствительностью растений к количеству усвояемой P_2O_5, можем получить малую изменчивость между вариантами опыта, если число одинаково усвояемых форм будет велико.

Для анализа достоверности опыта и его пригодности мы предлагаем определять достоверность разницы между контрольными вариантами опыта. Под последними следует при этом понимать не только делянки без удобрений, но и все делянки опыта, при помощи которых устанавливается чувствительность опытных растений к изучаемому фактору. В зависимости от задач опыта эти контрольные варианты будут различными.

В практике опытного дела в России анализ вариации (рассеяния, дисперсии) используют как способ вычисления ошибки опыта, без применения критерия Фишера. Этот способ вычисления сложнее и менее удобен, чем вычисления ошибки опыта с исправлением отклонений по повторениям, хотя и дает те же результаты.

Пример обработки результатов полевого опыта

В целях освоения наиболее простых практических приемов обработки результатов полевого опыта рассмотрим детально обработку результатов одного опыта.

В 1955 г. Центральной станцией удобрений и агропочвоведения СоюзНИХИ был проведен полевой опыт с внесением фосфорных удобрений в подкормку под хлопчатник. Опыт был поставлен на общем

для всех делянок опыта фоне удобрений, который состоял из 40 кг P_2O_5, внесенных в виде суперфосфата до посева, и 110 кг азота, внесенного в подкормку в виде аммиачной селитры. В схеме опыта всего было 8 вариантов (l = 8):

1. Одно фоновое удобрение («фон»).
2. Фон + суперфосфат из апатита.
3. Фон + суперфосфат из каратауского фосфорита.
4. Фон + аммонизированный суперфосфат.
5. Фон + аммофос из каратауского фосфорита.
6. Фон + аммофос из апатита.
7. Фон + плавленый магниевый фосфат.
8. Фон + обесфторенный фосфат.

Фосфорные удобрения вносились в подкормку в дозе 40 кг P_2O_5; при внесении аммофоса количество азота в фоновом удобрении соответственно уменьшалось на содержание азота в аммофосе. Опыт был поставлен в четырехкратной повторности (n = 4). Задача математической обработки результатов этого опыта – установить, было ли в опыте вообще достоверное положительное действие фосфатов и если оно было, то были ли в опыте достоверные различия между эффективностью различных форм фосфорных удобрений, внесенных в подкормку.

Прежде всего, необходимо составить таблицу данных опыта, по которой можно удобно подсчитать средние урожаи по вариантам и по повторениям опыта (табл. 54).

54. Вычисление средних показателей для вариантов и повторений полевого опыта

Вариант	Урожай делянок по повторениям, ц/га				Сумма урожаев по вариантам, ц/га.	Средний урожай по вариантам, ц/га	Отклонение вариантов от среднего урожая опыта, ц/га	Прибавка урожая от фосфорной подкормки, ц/га
	1	2	3	4				
1	31,0	33,3	37,1	35,5	136,9	34,2	-3,0	
2	34,8	36,5	41,7	39,8	152,8	38,2	+1,0	+4,0
3	34,5	36,2	40,7	38,4	149,8	37,4	+0,2	+3,2
4	35,6	35,7	37,4	44,6	153,3	38,3	+1,1	+4,1
5	36,4	36,3	39,5	37,2	149,4	37,4	+0,2	+3,2
6	36,7	40,9	40,6	41,3	159,5	39,9	+2,7	+5,7
7	34,6	37,4	37,4	34,6	144,0	36,0	-1,2	+1,8
8	34,2	34,7	39,9	37,3	146,1	36,5	-0,7	+2,3
Сумма по повторениям урожаев	277,8	291,0	314,3	308,7	1191,8	–	–	–
Средний урожай по повторениям	34,72	36,37	39,29	38,58	-	37,24	-	-
Отклонение повторений	-2,52	-0,87	+2,05	+1,34	-	-	-	-

Составив эту таблицу и подсчитав сумму урожаев для каждого варианта и каждого повторения, находим затем общую массу урожаев, полученных со всех 32 делянок опыта (1191,8). Складывая урожаи по вариантам или складывая урожаи по повторениям, получаем ту же величину, что свидетельствует о правильности наших подсчетов. Затем вычисляем средние урожаи для каждого варианта и для каждого повторения. При этом средние урожаи по вариантам мы записываем с точностью до 0,1 ц/га.

Цель опыта – установить прибавки урожаев хлопчатника от внесения в подкормку фосфорных удобрений, а задача математической обработки результатов опыта – установить степень их достоверности. Вычитая из величин средних урожаев по вариантам опыта (со 2-го по 7-й) величину среднего урожая по первому варианту (фон), получим прибавки урожаев хлопка-сырца (в ц/га) от внесения фосфатов. Эти прибавки колеблются в зависимости от формы фосфорного удобрения от 1,8 до 5,7 ц/га хлопка-сырца (см. табл. 54).

Разделив общую сумму урожаев на число делянок в опыте, получим средний урожай в опыте: 1191,8 : 32 = 37,24. Разделив суммы урожаев по повторениям на число вариантов, находим средние урожаи по повторениям. Вычитая из них величину среднего урожая для опыта, получаем отклонения для урожаев по повторениям; они равны – 2,52; – 0,87; +2,05 и +1,34. Как видим, первое повторение дает более низкие урожаи, а третье – более высокие, чем остальные повторения. Видимо, в опыте имело место изменение плодородия почвы при переходе от одного повторения к другому. Следовательно, при обработке результатов опыта надо исключить влияние варьирования величин урожаев по повторениям. Это достигается двумя способами: во-первых, путем получения исправленных отклонений для каждой делянки и, во-вторых, путем вычитания суммы квадратов отклонений по повторениям, умноженной на число вариантов, из суммы квадратов неисправленных отклонений.

Остановимся сначала на первом способе с использованием исправленных отклонений. С этой целью устанавливаем поправки по повторениям, они будут равны отклонениям повторений, взятым с обратным знаком: +2,5, +0,9, -2,1 и -1,3. Вычисление ошибок опыта производим на основе отклонений величин урожаев отдельных делянок от среднего по варианту. Эти отклонения приведены в графе 2 табл. 55. Например, для 1-го варианта, согласно табл. 15, имеем урожаи: 31,0; 33,3; 37,1; 35,5; средний урожай по варианту равен 34,2. Тогда отклонения равны: 31,0 – 34,2 = -3,2; 33,3 – 34,2 = – 0,9 и т.д. (см. табл. 55). Эти отклонения исправлены во всех вариантах на величину поправок по повторениям, указанным в графе 4 табл. 55, в графе 5 приведены исправленные отклонения, а в графе 6 – квадраты этих отклонений.

55. Вычисление суммы квадратов случайных отклонений

Вариант опыта	Отклонение от среднего для варианта	Квадрат отклонения	Поправка по повторениям	Исправленное отклонение	Квадрат исправленного отклонения
1	-3,2	10,24	+2,5	-0,7	0,49
	-0,9	0,81	+0,9	-0,0	0,00
	+2,9	8,41	-2,1	+0,8	0,64
	+1,3	1,69	-1,3	-0,0	0,00
2	-3,4	11,56	+2,5	-0,9	0,81
	-1,7	2,89	+0,9	-0,8	0,64
	+3,5	12,25	-2,1	+1,4	1,96
	+1,6	2,56	-1,3	+0,3	0,09
3	-2,9	8,41	+2,5	-0,4	0,16
	-1,2	1,44	+0,9	-0,3	0,09
	+3,3	10,89	-2,1	+1,2	1,44
	+1,0	1,00	-1,3	-0,3	0,09
4	-2,7	7,29	+2,5	-0,2	0,04
	-2,6	6,76	+0,9	-1,7	2,89
	-0,9	0,81	-2,1	-3,0	9,00
	+6,3	39,69	-1,3	+5,0	25,00
5	-1,0	1,00	+2,5	+1,5	2,25
	-1,1	1,21	+0,9	-0,2	0,04
	+2,1	4,41	-2,1	+0,0	0,00
	-0,2	0,04	-1,3	-1,5	2,25
6	-3,2	10,24	+2,5	-0,7	0,49
	+1,0	1,00	+0,9	+1,9	3,61
	+0,7	0,49	-2,1	-1,4	1,96
	+1,4	1,96	-1,3 ,	+0,1	0,01
7	-1,4	1,96	+2,5	+1,1	1,21
	+1,4	1,96	+0,9	+2,3	5,92
	+1,4	1,96	-2,1	-0,7	0,49
	-1,4	1,96	-1,3	-2,7	7,29
8	-2,3	5,29	+2,5	+0,2	0,04
	-1,8	3,24	-0,9	-0,9	0,81
	+3,4	11,56	-2,1	+1,3	1,69
	+0,8	0,64	-1,3	-0,5	0,25
Сумма квадратов	-	175,62	-	-	71,02

Сумма всех этих квадратов равна 71,02, ее мы должны разделить на число степеней свободы. Общее число делянок в опыте 32, следовательно, общее число степеней свободы в опыте равно 32 — 1 = 31, число степеней свободы для вариантов равно 8 — 1 = 7 и для повторений 4 — 1 = 3. При вычислении исправленных отклонений мы уже исключили влияние

повторений, а вычисляя отклонения внутри вариантов, исключили влияние вариантов. Таким образом, на долю случайного (остаточного) варьирования осталась 31 − 7 − 3 = 21 степень свободы. Эту же величину средней свободы находим, умножив число степеней свободы вариантов на число степеней свободы повторений ($l - 1 = 8 - 1 = 7$ и $n - 1 = 4 - 1 = 3$).

Вычисление квадратичного отклонения производим по формуле

$$\sigma \pm \sqrt{\frac{71{,}02}{21}} = \pm \sqrt{3{,}3818} = \pm 1{,}84 \text{ ц/га}$$

Следовательно, ошибка среднего по вариантам равна:

$$m = \pm \frac{1{,}84}{\sqrt{n}} = \pm \frac{1{,}84}{2} = \pm 0{,}92 \text{ ц}$$

Ошибка разности двух средних равна:

$$m_D = \pm \sqrt{(0{,}92)^2 + (0{,}92)^2} = \pm 1{,}41 \cdot 0{,}92 = \pm 1{,}30 \text{ ц}.$$

Рассмотрим второй способ вычисления ошибки опыта. Возведем в квадрат неисправленные отклонения урожаев делянок от средних по вариантам (графа 3, табл. 55) и найдем их сумму: 175,62. Возведем в квадрат отклонения по повторениям и найдем их сумму (табл. 56), которая будет равна 13,11. Эта сумма квадратов характеризует варьирование в зависимости от повторений в пределах одного варианта. Общее число вариантов равно 8; умножив на него сумму квадратов отклонений (Σv^2) 13,11, получим $\Sigma(\Sigma v^2) = 13{,}11 \cdot 8 = 104{,}88$, т.е. величину, характеризующую влияние различного плодородия повторений на варьирование урожаев в опыте.

56. Вычисление варьирования по повторениям

Повторение	Отклонение от среднего	Квадрат отклонения
1	-2,52	6,35
2	-0,87	0,76
3	-2.05	4,20
4	+1.34	1,80
Сумма квадратов		13,11

Вычитая из суммы квадратов неисправленных отклонений $\Sigma(\Sigma v^2) = 175{,}62$ варьирование повторений 104,88, получаем величину варьирования исправленных отклонений 70,74. Она только на 0,28 меньше, чем найденная первым способом (71,02); расхождение вполне понятное, так как при вычислении мы прибегали к округлению цифр до 0,1 или 0,01.

Вычисление по второму способу дает те же величины, что и по первому: $= \pm 1{,}84$, $m = \pm 0{,}92$ и $m_D = \pm 1{,}30$.

Если бы не учли изменения плодородия почвы по повторениям и в основу наших вычислений положили бы сумму квадратов неисправленных отклонений, то величина квадратичного отклонения была бы

равна + 2,70 и $m = \pm 1,35$, так как $\sigma \pm \sqrt{\frac{175,62}{24}} = \pm 2,70$.

В результате мы получили бы неправильное представление о малой точности опыта. Достоверность прибавок урожаев в опыте определяется тем, во сколько раз они превосходят свою ошибку. Вычисление ошибки разности (m_D) производим при использовании 21 степени свободы; из таблиц находим, что для 20 степеней свободы 5% показаний будет находиться за пределами ±2,09 m_D, 1% показаний – за пределами ±2,84 m_D.

Следовательно, прибавки урожаев, полученные в опыте, в 95% случаев будут отклоняться от найденных средних не более как на ± 2,09/ m_D = ± 2,09 × 1,30 = ± 2,7 ц, а в 99% случаев не более как на ±2,84 × 1,30 = = 3,7 ц. Но в данном случае нас интересует не столько возможность получения прибавок определенного размера, сколько достоверность наличия разности между вариантами. В этом случае важно учесть возможный процент вероятных отклонений за пределы не ± m_D, а только за пределы – m_D. Последний будет вдвое меньше указанного в табл. 49 для ± m_D, поэтому берем для характеристики вероятной ошибки в размере 5% случаев – 1,73 m_D, а для 1% – 2,53m_D т. е. для нашего опыта имеем соответственно 2,3 и 3,3 *ц*.

Большинство прибавок урожая от внесения фосфорных удобрений, кроме прибавок, полученных в 7-м и 8-м вариантах, больше 2,3 ц, следовательно, заслуживают внимания; более достоверными следует считать, однако, те прибавки, которые больше 3,3 ц.

Рассматривая внимательно данные табл. 52, видим, что урожай по одной из делянок, именно в четвертом варианте четвертого повторения, исключительно высок и равен 44,6 ц. Этот урожай превышает урожай среднего для этого варианта на 6,3 ц/га.

Основное отклонение в опыте было равно ± 1,84 ц, следовательно, отклонение этой делянки от среднего превышает основное отклонение в 3,4 раза. Среднее для трех других повторений этого варианта равно 36,2 ц, т.е. на 8,4 ц меньше, чем урожай в четвертом повторении. Такое отклонение от средних бывает весьма редко, меньше чем 1 раз в 1000 случаев, и наличие его дает неправильное представление об эффективности четвертого варианта. Целесообразно поэтому провести обработку данных опыта, исключив эту делянку.

Обработка опыта при отсутствии одной делянки может быть сделана для оставшихся вариантов, имеющих нормальное число повторений; обработка может быть сделана и для всех повторений, за исключением повторения с забракованной делянкой. Можно также сохранить обработку данных опыта в целом.

Исключив делянку с урожаем в 44,6 ц, мы уменьшаем общий урожай всех делянок до 1147,2 ц, средний урожай в опыте становится

равным 37,0 ц, поправки на плодородие повторений опыта тоже меняются. Они становятся равными + 2,3, + 0,6, -2,3 и – 0,7. При вычислении их можно исходить из среднего урожая для 8 вариантов первых трех повторений и 7 вариантов четвертого повторения, так как урожаи последнего варианта несущественно отличаются от урожаев других вариантов. В противном случае пришлось бы вычислять поправку по повторениям и средний урожай в опыте, исключив все делянки дефектного варианта.

Произведя заново вычисления исправленных отклонений и их квадратов, находим сумму квадратов отклонений $\sum v^2 = 34{,}11$ при 20 степенях свободы. Квадратическое отклонение уменьшилось бы до 1,32 ц, ошибка среднего т для варианта стала 0,66 ц и ошибка разности m_D средних вариантов ± 0,93 ц. Но эта ошибка разности средних не применима в тех случаях, когда в сравнении участвует четвертый вариант, в котором только три повторения. Ошибка разности в этом случае будет равна 1,01 *ц*. Так как для четвертого варианта $m = \pm\frac{1{,}32}{\sqrt{3}} = \pm 0{,}76$,

то, следовательно, $m_D = \pm\sqrt{m_1^2 + m_2^2} = \pm\sqrt{0{,}76^2 + 0{,}66^2} = \pm 1{,}01$

Считая, что существенное различие (вероятное в 95% всех случаев) между разностями равно 1,73 × m_D, имеем 1,73 × 0,93 = 1,6 ц и 1,73 × 1,01 = 1:,75, т. е. все прибавки урожаев в нашем опыте заслуживают внимания, а действие подкормки аммофосом сильнее, чем другими фосфорными удобрениями.

В большинстве опытов особое значение имеют фоновые, или контрольные, делянки, с которыми сравниваются урожаи прочих вариантов опыта. Если хотя бы одна из этих делянок окажется почему-либо поврежденной, то точность наших выводов существенно уменьшится. Поэтому весьма важно иметь в опыте удвоенное количество фоновых (контрольных) делянок, т. е. иметь для фона два тождественных варианта. При вычислении ошибки опыта они участвуют как отдельные самостоятельные варианты.

Но при вычислении прибавки урожаев против фона (контроля) используется уже средний урожай для всех фоновых делянок. В этом случае ошибка фонового варианта меньше, чем ошибка прочих вариантов. Ошибка прибавок урожая против фона равна

$$m_D = \pm\sqrt{m_1^2 + m_2^2} \pm \sqrt{(\frac{m}{\sqrt{2}})^2 + m^2} = +\sqrt{\frac{3m^2}{2}} = \pm 1{,}22m,$$

вместо m_D = ± 1,41 m, когда сравниваются другие варианты. Увеличение числа контрольных (или фоновых) делянок не только гарантирует сохранность опыта, но и повышает точность основных выводов.

Приведенный способ обработки при помощи вычисления отклонений имеет преимущество большой наглядности: исследователь

видит, что именно определяет точность его работы и какие отдельные урожайные данные сомнительны и какие средние величины заслуживают поэтому меньшего доверия. Так, средние для вариантов, в основе которых лежат сильно расходящиеся показания, должны быть оговорены, для таких вариантов приводятся средние как из всех повторений, так и из меньшего числа повторений, не вызывающих сомнений. Браковка делянок, дающих сильно отклоняющиеся показания (> 3 6), специально оговаривается при опубликовании данных опыта.

Приведенный нами способ обработки результатов опыта позволяет использовать и метод анализа вариации Фишера. Для этого необходимо вычислить средний квадрат рассеяния (вариации) вариантов опыта. Вычисляем отклонения урожаев по вариантам от среднего урожая в опыте, возводим их в квадрат, определяем сумму квадратов и умножаем ее на число повторений (табл. 57).

57. Вычисление варьирования по вариантам

Вариант	Отклонение от среднего	Квадрат отклонения	Вариант	Отклонение от среднего	Квадрат отклонения
1	-3,0	9,00	5	+0,2	0,04
2	+1,0	1,00	6	+2,7	7,29
3	+0,2	0,04	7	-1,2	1,44
4	+1,1	1,21	8	-0,7	0,49
				Сумма квадратов	20,51

Получаем, что $\sum (\sum v^2)$ для вариантов равна 20,51 × 4 = 82,04. Теперь легко можно составить таблицу анализа вариации в опыте по Фишеру (табл. 58), так как остальные необходимые величины уже были нами вычислены ранее. Чтобы установить пригодность опыта для решения поставленного вопроса, мы должны установить отношение среднего квадрата вариантов к среднему квадрату случайного отклонения; оно равно 11,72 : 3,37 = 3,48.

58. Анализ варьирования в полевом опыте по методу Фишера

Варьирование	Число степеней свободы	Сумма квадратов	Средний квадрат	Отношение средних квадратов
Общее	31	257.66	-	-
Вариантов	7	82,04	11,72	3,48
Повторений	3	104,88	34,96	11,68
Случайное (остаточное)	21	70,74	3,37	-

Обратимся к данным табл. 52, учтя поправочную таблицу Снедекора. При наличии 53 степеней свободы (7 для вариантов и 3 для повторений) для вероятности в 95% отношение между средними квадратами по таблице Снедекора должно быть не меньше 2,50; наше отношение равно 3,48. Для вероятности в 99% (табл. 53) находим, что соотношение между средними квадратами при указанных степенях свободы, по Снедекору, должно быть не меньше 3,65; наше же отношение только немного меньше его — 3,48. Следовательно, можно считать опыт вполне пригодным для решения вопроса, который в нем изучался.

Повторения опыта тоже существенно различались по своему плодородию. Отношение среднего квадрата для повторений к среднему квадрату случайного рассеяния при вероятности в 95% равно 39,96 : 3,37 = 11,68. По таблице Снедекора для большей вероятности (в 99%) отношение должно быть в этом случае не менее 5,78; в нашем опыте оно много больше — 11,68.

В практике опытного дела обработку результатов опыта часто ведут специальные отделы статистики. Это обеспечивает качество обработки. Но исследователь должен сам хорошо понимать, в силу каких особенностей опыта получилась та или иная степень его точности, что собственно характеризует полученные показатели и как их следует применять с различными целями. Это возможно только тогда, когда ему ясен весь ход обработки данных его опыта.

ПРИМЕР ВЫЧИСЛЕНИЯ И ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КОЭФФИЦИЕНТОВ КОРРЕЛЯЦИИ И РЕГРЕССИИ И УСТАНОВЛЕНИЯ ИХ ОШИБОК

На Мироновской сельскохозяйственной опытной станции с различных делянок многолетних опытов были взяты образцы почвы северного малогумусного мощного чернозема. На этих образцах были поставлены вегетационные опыты с внесением в почву радиоактивной метки для определения запасов в почвах усвояемых для растений фосфатов. Эти же почвенные образцы были проанализированы по методу Труога для определения содержания в них легкорастворимых, или подвижных, фосфатов.

В результате получилось два ряда показаний, характеризующих взятые почвенные образцы: запасов в них усвояемых фосфатов и содержания в них фосфатов, растворимых по методу Труога. Спрашивается: можно ли на основании анализов почвы по методу Труога судить о содержании в почвах усвояемых для растений фосфатов?

Для ответа на этот вопрос надо определить коэффициент корреляции, который в данном случае показывает степень сопряженности показаний химического анализа почв и результатов вегетационных опытов, поставленных на тех же образцах почвы.

В табл. 59 приведены результаты анализов и вегетационных опытов, а также порядок вычисления коэффициента корреляции.

59. Вычисление коэффициента корреляции между содержанием в почве растворимых фосфатов по методу Труога и запасом усвояемых фосфатов по данным вегетационных опытов

№ образца	Анализ по Труогу			Вегетационный опыт			Произведение отклонений (v_1v_2)
	P_2O_5, *мг*	отклонение от среднего (v_1)	квадрат отклонения (v_1^2)	P_2O_5, *мг*	отклонение от среднего (v_2)	квадрат отклонения (v_2^2)	
1	20,7	-7,2	51,84	9,2	-6,8	46,24	+48,96
2	31,6	+3,7	13,69	16,0	0,0	0,00	0,00
3	26,2	-1,7	2,89	15,9	-0,1	0,01	+0.17
4	29,8	+1,9	3,61	17.2	+1,2	1,44	+2,28
5	41,8	+13,9	193,21	27,8	+11,8	139,24	+164,02
6	46,8	+18,9	357,21	30,9	+14,9	222,01	+281,61
7	16,4	-11,5	132,25	5,6	-10,4	108,16	+119,60
8	29,6	+1,7	2,89	15,0	-1,0	1,00	-1,70
9	28,2	+0,3	0,09	23,4	+7,4	54,76	+2,22
10	24,7	-3,2	10,24	13,8	-2,2	4,84	+7,04
11	28,8	+0,9	0,81	14,4	-1,6	2,56	-1,44
12	42,8	+14,9	222,01	30,2	+14,2	201,64	+211,58
13	14,7	-13,2	174,24	10,7	-5,3	28,09	+69,96
14	16,4	—11,5	132,25	5,9	-10,1	102,01	+116,15
15	15,2	-12,7	161 ,29	5,3	-10,7	114,49	+135,89
16	27,9	0,0	0,00	14,8	-1.2	1,44	0.00
17	32,7	+4,8	23,04	17.2	+1.2	1,44	+5.76
Сумма Среднее	474,3 M_1= =27,9		$\sum v_1^2$= 1481,56	272,3 M_2=16,0		$\sum v_2^2$= 1029,37	$\sum v_1v_2$= +1162,10

Содержание в почве растворимых фосфатов было значительно больше, чем усвояемых: в среднем в образцах почвы было найдено 27,9 мг P_2O_5 по данным химического анализа и только 16,0 мг P_2O_5 по данным вегетационных опытов. Но, просматривая оба ряда цифр, видим, что они меняются соответственно один другому. Для вычисления коэффициента корреляции определяем для каждого ряда отклонения отдельных показаний от их средних величин. В большинстве случаев положительное отклонение в одном ряду совпадает с положительным

отклонением в другом ряду. Поэтому и произведения отклонений в большинстве случаев — положительные величины.

Произведения отклонений, положительные и отрицательные, складываем и определяем их сумму $\sum v_1 \cdot v_2$, в данном случае она равна 1162,10. Отклонения отдельных показаний от соответственных средних величин 27,9 для химических анализов и 16,0 для результатов вегетационных опытов возводим в квадрат и суммируем квадраты отклонений, в результате получаем: $\sum v_1^2 = 1481{,}56$ и $\sum v_2^2 = 1029{,}37$.

Следовательно, коэффициент корреляции между показаниями химических анализов и результатами вегетационных опытов будет равен:

$$r = \frac{\sum v_1 v_2}{\sqrt{\sum v_1^2 \sum v_2^2}} = \frac{1162{,}10}{\sqrt{1481{,}56 \cdot 1029{,}37}} = \pm \frac{1162{,}1}{1234{,}9} = \pm 0{,}941.$$

Пользуясь таблицами Барлоу (1965), легко производим вычисление необходимых квадратов и квадратных корней.

Вычисление ошибки коэффициента корреляции, т.е. его стандартного, или квадратического, отклонения от возможного истинного значения коэффициента корреляции, производим в данном случае по формуле, предложенной Фишером для небольшого количества пар сравниваемых величин: $m_r = \sqrt{\frac{1-r^2}{n-2}}$, где n — количество пар сравнений, в данном случае 17.

Это количество уменьшается на 2, так как для получения коэффициента корреляции используются две средние величины для двух рядов; следовательно, число степеней свободы уменьшается на 2.

Подставляя полученные нами величины в формулу Фишера, имеем: $m_r = \sqrt{\frac{1-r^2}{n-2}} = \sqrt{\frac{1-0{,}941^2}{17-2}} = 0{,}08737$

Таким образом, в результате вычислений: $r = +0{,}941 \pm 0{,}087$.

Для оценки степени достоверности или существенности, т.е. определения того, в каком количестве возможных случаев корреляция между двумя рядами будет вообще иметь место, определяем величину t, т.е. отношение величины коэффициента корреляции к его ошибке:

$$t = \frac{r}{m_r} = \frac{0{,}941}{0{,}087} = 10{,}8.$$

Пользуясь далее табл. 51, видим, что в данном случае наличие корреляции доказано более чем для 99,75% возможных случаев. При этом пользовании табл. 51 в данном случае вместо величины $n-1$ берется $n-2$.

Ошибка коэффициента корреляции, как это видно из его формулы, зависит от двух величин: числа степеней свободы, т. е. количества пар сравнений, уменьшенного на 2, и от величины самого коэффициента корреляции. Вполне понятно, что наличие соответствия между двумя величинами тем достовернее, чем более тесно связано изменение величин одного ряда с изменением показаний другого ряда и чем больше пар

сравнений имеется для выявления этого соответствия. Для принятого при биологических исследованиях установления вероятности определений в 95 и 99% (или «существенности на уровне 5 и 1%») составлена табл. 60, по которой на основе величины r и $n - 2$ определяют степень достоверности коэффициента корреляции. Эту таблицу приводим из руководства Снедекора (1961).

60. Коэффициенты корреляции при вероятности в 95 и 99% всех возможных случаев

Число степеней свободы	95%	99%	Число степеней свободы	95%	99%	Число степеней свободы	95%	99%
1	0,997	1,000	16	0,468	0,590	35	0,325	0,418
2	0,950	0,990	17	0,456	0,575	40	0,304	0,393
3	0,878	0,959	18	0,444	0,561	45	0,288	0,372
4	0,811	0,917	19	0,433	0,549	50	0,273	0,354
5	0,754	0,874	20	0,423	0,537	60	0,250	0,325
6	0,707	0,834	21	0,413	0,526	70	0,232	0,302
7	0,666	0,798	22	0,404	0,515	80	0,217	0,283
8	0,632	0,765	23	0,396	0,505	90	0,205	0,267
9	0,602	0,735	24	0,388	0,496	100	0,195	0,254
10	0,576	0,708	25	0,381	0,487	125	0,174	0,228
11	0,553	0,684	26	0,374	0,478	150	0,159	0,208
12	0,532	0,661	27	0,367	0,470	200	0,138	0,181
13	0,514	0,641	28	0,361	0,463	300	0,113	0,148
14	0,497	0,623	29	0,355	0,456	400	0,098	0,128
15	0,482	0,606	30	0,349	0,449	500	0,088	0,115
						1000	0,062	0,081

В нашем примере найденный коэффициент корреляции и степень его достоверности определенно говорят о том, что между содержанием в почве растворимых фосфатов по Труогу и количеством в почве усвояемых для растений фосфатов имеется корреляция или даже определенная причинная зависимость, конечно, для конкретных условий проведения опытов.

Поэтому вполне целесообразно и установление коэффициента регрессии *(b)* количества усвояемых фосфатов в почве по содержанию в ней растворимых фосфатов:

$$b = \frac{\sum v_1 v_2}{\sum v_1^2} = \frac{1162{,}10}{1481{,}56} = 0{,}784$$

Таким образом, если содержание в почве растворимых фосфатов меняется на 1 мг P_2O_5, содержание усвояемых фосфатов в ней меняется на 0,784 мг P_2O_5. Следовательно, на основе отдельных показаний для

растворимых фосфатов *(x)* можем вычислить количество в почве усвояемых для растений фосфатов *(y)* по уравнению

$$Y - M_2 = b(x - M_1),$$
$$y - 16{,}0 = 0{,}784(x - 27{,}9),$$
$$y = -5{,}9 + 0{,}784x.$$

Предположим, что анализ установил содержание в почве в одном случае 41,8 мг P_2O_5 и в другом 32,7 мг P_2O_5. Тогда по приведенной формуле находим запасы усвояемых фосфатов в почве; они будут соответственно равны 26,8 мг P_2O_5 и 19,7 мг P_2O_5. В вегетационных опытах (см. табл. 59, показания для образцов 5 и 17) были получены соответственно следующие величины: 27,8 мг P_2O_5 и 17,2 мг P_2O_5. Таким образом, отклонения величин, вычисленных по формуле регрессии, от величин экспериментально найденных было −1,0 мг и +2,5 мг. Такое расхождение между данными, полученными на основе химического анализа и результатами опытов, нельзя считать значительным. Конечно, такое расхождение между данными двух химических анализов было бы недопустимым.

Для установления возможной степени достоверности коэффициента регрессии определим его основное квадратическое отклонение по формуле

$$m_b = \frac{\sqrt{\frac{\sum d^2}{n-2}}}{\sqrt{\sum v_1^2}},$$

где Σd^2 – сумма квадратов отклонений экспериментально найденных величин от величин, вычисленных по формуле регрессии.

Эта сумма квадратов может быть найдена двумя путями: во-первых, путем непосредственного определения отклонений найденных величин от вычисленных для всех образцов почвы, последующего возведения их в квадрат и нахождения их суммы (табл. 61);
во-вторых, путем использования следующей формулы

$$\sum d^2 = \sum v_2^2 - \frac{(\sum v_1 v_2)^2}{\sum v_1^2}.$$

Подставляя в эту формулу соответствующие величины из табл. 59, имеем:

$$\sum d^2 = 1029{,}37 - \frac{1162{,}10^2}{1481{,}56} = 1029{,}37 - 911{,}52 = 117{,}85.$$

Отсюда вычисляем основное квадратическое отклонение для расхождений между вычисленными и найденными величинами:

$$\sigma_d = \sqrt{\frac{\sum d^2}{n-2}} = \sqrt{\frac{117{,}85}{17-2}} = \sqrt{7{,}85} = \pm 2{,}80$$

Таким образом, отклонение найденных в опытах величин от вычисленных по формуле регрессии может быть весьма существенным, хотя ошибка вычисления коэффициента регрессии и невелика, она равна

$$m_b = \frac{\sigma_{\%_0}}{\sqrt{\sum v_1^2}} = \frac{2,80}{\sqrt{1481,56}} = \frac{2,80}{38,5} = \pm 0,0727.$$

Тот же результат получаем и при вычислении ошибки коэффициента регрессии по таблице 61.

61. Вычисление ошибки – квадратического отклонения коэффициента регрессии

№ образца	Анализ почвы по методу Труога *(x)*	Содержание усвояемых фосфатов, найденное в опытах, *мг*	Содержание усвояемых фосфатов, вычисленное по формуле регрессии (y)	Отклонение найденных величин от вычисленных (d)	Квадрат отклонения (d^2)
1	20,7	9,2	10,3	-1,1	1,21
2	31,6	16,0	18,9	-2,9	8,41
3	26,2	16,9	14,6	+1,3	1,69
4	29,8	17,2	17,5	+0,3	0,09
5	41,8	27,8	26,9	+0,9	0,81
6	46,8	30,9	30,8	+0,1	0,01
7	16,4	5,6	6,9	-1,3	1,69
8	29,6	15,0	17,3	-2,3	5,29
9	28,2	23,4	16,2	+7.2	51,84
10	24,7	13,8	13,5	+0,3	0,09
11	28,8	14,4	16,7	-2,3	5,29
12	42,8	30,2	27,7	+2,5	6,25
13	14,7	10,7	5,6	+5,1	26 ,01
14	16,4	5,9	6,9	-1,0	1,00
15	15,2	5,3	6,0	-0.7	0,49
16	27,9	14,8	16,0	-1,2	1,44
17	32,7	17,2	19,7	-2,5	6,25
Сумма Среднее	474,3 M_1 =27,9	272.3 M_2 = 16.0	-	-	$\sum d^2$ = 117,86

В результате округления количества усвояемых фосфатов (вычисляемых по формуле) до 0,1 *мг* сумма квадратов отклонений $\sum d^2$ несколько (на 0,21) отличается от вычисленной ранее, но это, конечно, не отражается на результатах определения ошибки коэффициента регрессии.

Величина *t*, т.е. отношение коэффициента регрессии к его ошибке b/m_b, та же, что и для коэффициента корреляции:

$$t = \frac{0,784}{0,0727} = 10,8$$

Для оценки достоверности коэффициента регрессии или степени его существенности можем использовать табл. 51 так же, как это ранее делали для коэффициента корреляции. Несмотря на высокую степень точности вычисления коэффициента регрессии в нашем примере,

отдельные показания, полученные в опытах, могут существенно отличаться от вычисленных на основе формулы регрессии. Из данных табл. 61 видно, что расхождения между экспериментально найденными и вычисленными величинами достигали 5,1 и 7,2 мг P_2O_5, т. е. были равны 32 и 45% от средней величины.

В нашем примере тройное квадратическое отклонение

$$3\sigma = 2{,}80 \cdot 3 = 8{,}40 \text{ мг } P_2O_5,$$

следовательно, получение таких больших расхождений, как 5,1 и 7,2, возможно.

При анализе опытных данных, когда мы хотим установить соответствие между двумя рядами показаний, необходимо прежде всего установить коэффициент корреляции и степень его достоверности.

Вполне возможно, что коэффициент корреляции будет установлен с большой достоверностью, но величина его будет малой. Тогда не имеет смысла вычислять коэффициенты регрессии, так как, видимо, оба ряда сравниваемых явлений подчиняются разным закономерностям. Если между этими рядами имеется высокая и достоверная корреляция, то вычисление коэффициента регрессии поможет нам более полно осветить наблюдающиеся явления. Например, предположим, что для ряда образцов почвы были проведены определения содержания в почве подвижных форм калия двумя методами: более сложным и дорогим стандартным методом и более простым и дешевым новым методом. Между показаниями этих методов найдена высокая и достоверная корреляция. Тогда, вычисляя коэффициент регрессии для нового метода, можем, работая новым методом, перечислять его показания в показания стандартного метода, для которых уже установлены соответствующие градации отзывчивости почв на внесение калийных удобрений. Но достаточно ли наличия высокого коэффициента корреляции и точно определенного коэффициента регрессии, чтобы обоснованно рекомендовать замену стандартного метода новым методом? Предположим, что почвы по степени обеспеченности их калием разбиты на группы, различающиеся на 5 мг калия, а основное квадратическое отклонение между найденными показаниями и вычисленными по формуле регрессии равно 1 мг калия. Тогда большое количество образцов почв, отнесенное при работе стандартным методом в одну группу по степени обеспеченности почв калием, попадет в другую группу, если мы будем работать новым методом, несмотря на высокую корреляцию между показаниями этих методов и точно установленный коэффициент регрессии. Для большинства агрономических явлений поэтому важно определение основного квадратического отклонения для расхождений между данными, полученными в опыте и вычисленными по формуле регрессии.

ПРИЛОЖЕНИЕ

ПРИГОТОВЛЕНИЕ НЕКОТОРЫХ РАСТВОРОВ И РЕАКТИВОВ

Азометин Н (синтез): 18 г *Н*-кислоты (1-амино-8-нафтол-3,6-дисульфокислоты) растворяют при слабом нагревании в 1000 $см^3$ бидистиллированной воды и фильтруют в плоскодонную колбу объемом 2000 $см^3$. Раствор нейтрализуют до pH 7 (по универсальной индикаторной бумаге) 10%-м раствором едкого натра. Затем по каплям, при непрерывном перемешивании, добавляют концентрированную соляную кислоту до pH 1,5 – 3. После этого к раствору добавляют 20 $см^3$ свежего перегнанного салицилового альдегида (ГОСТ 9866, «ч.д.а.») и хорошо перемешивают в течение 1 ч (механической мешалкой) и оставляют на ночь до полного выделения азометина. Образовавшийся осадок азометина Н отфильтровывают через воронку Бюхнера с отсасыванием и промывают несколько раз сначала этанолом (ГОСТ 18300), а затем серным эфиром (этиловый эфир серной кислоты МРТУ 6-09-2407-65). Осадок высушивают до постоянного веса при 100 – 105°С и хранят в склянке с притертой пробкой.

Дисульфофеноловая кислота – $C_6H_3(HSO_3)_2OH$. 74,6 г «х.ч.» фенола осторожно смешать в толстостенной фарфоровой посуде с 500 $см^3$ концентрированной серной кислоты (d=1,84), постоянно перемешивая фарфоровым шпателем или стеклянной палочкой. После того как смесь охладится до комнатной температуры, поместить её в круглую плоскодонную колбу объёмом 1 $дм^3$, закрыть пробкой с обратным холодильником и нагревать на водяной бане 6 – 8 часов (до полного растворения фенола). *Работу проводить под тягой!* Можно также 50 г реактива фенол 2,4-дисульфокислота растворить в 100 $см^3$ концентрированной H_2SO_4 (d = 1,84).

Индикатор Гроака, комбинированный, при pH 5,5 – чёткое изменение фиолетового цвета на зелёный. 0,15 г метиленового красного растворяют в 102 $см^3$ этилового спирта-ректификата; 0,05 г метиленового голубого растворяют в 5 $см^3$ дистиллированной воды. Смешивают приготовленные компоненты, индикатор хранят в склянке из тёмного стекла.

Индикаторы хромоген черный и мурексид: растереть в ступке 5 г индикатора с 95 г NaCl или KCl до равномерно окрашенного состояния. Индикаторы хранить в темной банке с притертой пробкой.

Мацерированная фильтровальная бумага: размельченную фильтровальную бумагу залить 2–3%-м раствором HCl и нагреть до кипения, кипятить при помешивании до превращения бумаги в однородную массу. Охлажденную массу отфильтровать через бюхнеровскую воронку и отмыть водой до нейтральной реакции. Осадок перенести в склянку и разбавить водой до получения однородной суспензии. Суспензия может храниться долго. Перед употреблением суспензию взболтать.

Раствор азота аммония массовой концентрации 0,25 мг/$см^3$: 0,955 г NH_4Cl, высушенного при температуре 100 – 105° С до постоянной массы, взвешивают с погрешностью не более 0,001 г, помещают в мерную колбу вместимостью 1000 $см^3$ и растворяют в растворе KCl концентрации 1 моль/$дм^3$, доводя объем до метки. Раствор хранят в склянке с притертой пробкой не более 1 месяца.

Раствор азота нитратов массовой концентрации 0,125 мг/$см^3$: 0,903 г азотнокислого калия, высушенного при температуре 100–105°С до постоянной массы, взвешивают с погрешностью не более 0,001 г, помещают в мерную колбу

вместимостью 1000 см^3 и растворяют в растворе хлористого калия концентрации 1 моль/дм^3, доводя объем до метки.
Раствор хранят в склянке с притертой пробкой в холодильнике не более 1 мес.

Раствор алюминия концентрации c(1/3 Al^{3+}) = 0,26 ммоль/см^3: 1,125 г алюминия, взвешенного с погрешностью не более 0,001 г, помещают в мерную колбу вместимостью 500 см^3, приливают 30 см^3 соляной кислоты (ГОСТ 3118, «х.ч.» или «ч.д.а.»), разбавленной 1 : 1 дистиллированной водой. После прекращения бурного выделения пузырьков водорода колбу помещают на кипящую водяную баню и нагревают до полного растворения алюминия. После охлаждения в колбу добавляют 37,5 г хлористого калия, взвешенного с погрешностью не более 0,1 г, и дистиллированной водой доводят объем до метки. Раствор тщательно перемешивают. Раствор хранят в склянке с притертой пробкой не более 1 года.

Раствор алюминия концентрации c(1/3 Al^{3+}) = 0,025 ммоль/см^3: 25 см^3 раствора алюминия концентрации 0,25 ммоль/см^3 помещают в мерную колбу вместимостью 250 см^3, раствором хлористого калия концентрации 1 моль/дм^3 доводят объем до метки и тщательно перемешивают. Раствор хранят в склянке с притертой пробкой не более 3 мес.

Раствор аммиака NH_4OH 5%-й (удельный вес 0,91): 215,4 см^3 помещают в колбу объёмом 1 дм^3 и тщательно перемешивают.

Раствор аммония лимоннокислого (трехзамещенного, ГОСТ 9464) ***с массовой долей 5%:*** 50 г реактива растворяют в бидистиллированной воде и доводят объем до 1000 см^3. Полученный раствор очищают от следов меди (см. с. 234);

Раствор аммония молибденовокислого (для титриметрического определения нитратного азота в минеральных удобрениях), готовят следующим образом: 30 г молибденовокислого аммония четырехводного (ГОСТ 3765, «ч.д.а.») растворяют в 500 см^3 воды при температуре 50°С, раствор охлаждают, помещают в мерную колбу вместимостью 1 дм^3, доводят объем до метки водой и тщательно перемешивают.

Раствор аммония углекислого концентрации 10 г/дм^3 с pH = 9,0: (10,0 ± 0,1) г углекислого аммония растворяют в воде и доводят объем до 1 дм^3. Раствор тщательно перемешивают и измеряют его pH. До указанной величины pH= 9 доводят, прибавляя углекислый аммоний, если pH выше 9, или водный аммиак, если pH ниже 9. После установления требуемого pH титрованием проверяют концентрацию углекислого аммония в растворе. Для этого в 3 конические колбы отбирают по 5 см^3 приготовленного раствора, прибавляют по 50 см^3 воды, 2 капли метилового оранжевого и титруют раствором соляной кислоты концентрации 0,1 моль/дм^3 до перехода желтой окраски в оранжевую. Точную концентрацию раствора углекислого аммония (c_2), моль/дм^3, вычисляют по уравнению:
$c_2 = c_1 \cdot V_2 : V_1$ где c_1 – концентрация раствора HCl, моль/дм^3; V_1 – объем раствора углекислого аммония, отобранный для титрования, см^3; V_2 – объем раствора HCl, израсходованный на титрование, см^3.
Допускается использование раствора углекислого аммония концентрации (0,198 – 0,222) моль/дм^3. Если концентрация выше заданной – добавляют воду, если ниже – углекислый аммоний. Затем снова измеряют величину pH и проверяют концентрацию раствора.

Раствор аммония уксуснокислого CH_3COONH_4 1,0 н. с pH 7,0: поскольку кристаллический ацетат аммония гигроскопичен и может быть загрязнен солями кальция, следует готовить реактив, смешивая уксусную кислоту и аммиак. Для этого измерительным цилиндром отмеряют 57 см^3 ледяной уксусной кислоты (d =

1,05), разбавляют дистиллированной водой в мерном стакане до 800 $см^3$, нейтрализуют 25%-м раствором аммиака до pH 7,0 (по pH-метру), затем доводят водой до метки и перемешивают. Реактив долго не хранится, его следует готовить перед проведением определения.

Раствор аммония уксуснокислого концентрации 1 моль/дм³ (с pH 6,7-7,0) готовят из расчета 77 г уксуснокислого аммония («х.ч.» или «ч.д.а.», ГОСТ 3117), взвешенного с погрешностью не более 0,1 г на 1000 $см^3$ раствора и измеряют pH. Если значения pH меньше или больше, требуемое значение pH получают прибавлением раствора аммиака или раствора уксусной кислоты с массовой долей 10%.

Раствор аммония хлористого (ГОСТ 3773) с массовой концентрацией азота 0,1 мг/см³: 0,382 г хлористого аммония растворяют в небольшом количестве дистиллированной воды без аммиака, переносят в мерную колбу вместимостью 1000 $см^3$ и доливают до метки водой, затем перемешивают.

Раствор аскорбиновой кислоты массовой концентрации 0,2 г/дм³: 0,2 г аскорбиновой кислоты, взвешенной с погрешностью не более 0,01 г, растворяют в дистиллированной воде (ГОСТ 6709) и доводят объем до 1000 $см^3$. Раствор готовят в день проведения анализа.

Раствор бария хромовокислого $BaCrO_4$ 0,05 М в растворе HCl 1,5 М: 12,7 г $BaCrO_4$ растворяют в 1 $дм^3$ 1,5 М раствора HCl. Если при растворении и суточном настаивании получают мутный раствор хромата бария, его фильтруют.

Раствор буферный аммонийный (pH 10) с $MgCl_2$: в 113 $см^3$ концентрированного аммиака растворяют 8,3 г NH_4Cl, доводят объем до 900 $см^3$. Затем берут 10 $см^3$ 10%-го раствора $MgCl_2$, прибавляют 40 $см^3$ воды, 10 $см^3$ этого буферного раствора, прибавляют на кончике пера хромогена черного Т и 3 капли кислотного хрома темно-синего и титруют 10%-м раствором трилона Б до чисто-синей окраски. Этот оттитрованный раствор прибавляют ко всему буферному раствору, доводят объем до 1 $дм^3$ и перемешивают.

Раствор буферный ацетат-аммонийный *1 М с pH-4,8*: для приготовления 1000 $см^3$ необходимо 108 $см^3$ 98%-й CH_3COOH и 75 $см^3$ 25%-го раствора NH_4OH добавить к 800 – 900 $см^3$ бидистиллированной воды, перемешать, измерить pH и если необходимо, довести его до 4,8, после чего раствор водой довести до 1000 $см^3$.

Раствор буферный ацетатный (pH 5,0): 272 г кристаллического уксуснокислого натрия ($CH_3COONa \cdot 3H_2O$) растворяют в бидистиллированной воде, вносят 58 $см^3$ ледяной уксусной кислоты и доводят объем до 1000 $см^3$ бидистиллированной водой.

Определение чистоты реактива: к 10 $см^3$ приготовленного буферного раствора добавляют 1 $см^3$ 0,04%-го раствора дитизона в четыреххлористом углероде и встряхивают. Если ярко-зеленая окраска дитизона изменилась, то весь ацетатный буферный раствор обрабатывают в делительной воронке 0,04%-м раствором дитизона в CCl_4. Затем очищенный буферный раствор промывают в делительной воронке четыреххлористым углеродом для удаления следов дитизона.

Раствор буферный фосфатный с бромистым калием; готовят следую-щим образом: 30 г однозамещенного фосфорнокислого калия (ГОСТ 4198), 60 г двузамещенного фосфорнокислого натрия (ГОСТ 4172, «х.ч.») и 100 г калия бромистого (ГОСТ 4160), растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 1 $дм^3$, доливают водой до метки, перемешивают и фильтруют в темную склянку с притертой пробкой.

Раствор гидроксиламина солянокислого 5%-го: 50 г солянокислого гидроксиламина растворяют в 950 $см^3$ дистиллированной воды.

Раствор гипохлорита натрия (запасной). В стакан вместимостью 500 $см^3$ наливают 255 $см^3$ дистиллированной воды без аммиака и при перемешивании добавляют 150,0 г хлорной извести. В другой стакан вместимостью 1000 см наливают 255 см дистиллированной воды и при перемешивании вводят 105,0 г углекислого натрия. Затем содержимое обоих стаканов смешивают. Масса сначала становится густой, а затем более жидкой. Суспензию оставляют на 1 – 2 суток, после чего осторожно сливают верхний прозрачный слой в склянку из темного стекла. Раствор можно хранить в холодильнике до 1 года.

В приготовленном растворе необходимо определить концентрацию активного хлора. Для этого 1 $см^3$ запасного раствора разбавляют дистиллированной водой в конической колбе вместимостью 250 $см^3$ до 100 $см^3$. К раствору добавляют 20 $см^3$ раствора с массовой долей йодистого калия 10%, 10 см раствора с массовой долей серной кислоты 10% и оттитровывают выделившийся свободный йод раствором тиосульфата $c(Na_2S_2O_3)$ = 0,1 моль/$дм^3$ до исчезновения желтой окраски. 1 $см^3$ раствора тиосульфата 0,1 моль/$дм^3$ соответствует 0,0035 г свободного хлора.

Раствор гипохлорита натрия* (запасной): 150 г хлорной извести помещают в химический стакан емкостью 1 $дм^3$; прибавляют 250 $см^3$ дистиллированной воды и перемешивают. 150 г углекислого натрия помещают в стакан емкостью 500 $см^3$ и растворяют в 250 $см^3$ дистиллированной воды. Раствор углекислого натрия вливают в раствор хлорной извести при непрерывном помешивании. Полученную смесь оставляют на сутки для отстаивания, затем надосадочную жидкость сливают и отфильтровывают.

Концентрация активного иона Cl в растворе гипохлорита натрия устанавливается титрованием. Для этого в колбу или стакан на 100 $см^3$ берут 1 $см^3$ приготовленного раствора гипохлорита натрия, разбавляют дистиллированной водой до объема 40-50 $см^3$, прибавляют 2 г йодистого калия и 10 $см^3$ 1н. раствора соляной кислоты. Образовавшийся йод титруют 0,1 н. раствором серноватисто-кислого натрия до исчезновения вишневой окраски (1 $см^3$ 0,1 н. раствора серноватисто-кислого натрия соответствует 0,00355 г хлора).

Массовую долю активного хлора (x, %) в запасном растворе гипохлорита натрия вычисляют по формуле $x = 0{,}00355 \cdot v \cdot 100$, где v – объем раствора серноватистокислого натрия, пошедшего на титрование, $см^3$.

Раствор гипохлорита натрия**: 100 г хлорной извести тщательно перемешать в фарфоровом стакане с 100 – 150 $см^3$ воды, добавить при постоянном помешивании раствор 70 г Na_2CO_3 в 170 $см^3$ воды. При прибавлении раствора соды сначала получается густая масса, которая разжижается, так как образуются растворимые солигипохлорит натрия и хлористый натрий. Раствор отделить от осадка $CaCO_3$ фильтрованием через воронку Бюхнера с полотняным фильтром. Прозрачный фильтрат содержит 3 – 5% гипохлорита натрия. В полученном растворе гипохлорита определить концентрацию активного хлора: 1 $см^3$ раствора NaClO разбавить водой до 50 $см^3$, добавить 2-3 г KJ и 3 $см^3$ концентрированной HCl. Выделившийся йод оттитровать гипосульфитом натрия до исчезновения фиолетовой окраски. 1 $см^3$ 0,1 н. гипосульфита натрия соответствует 0,0035 г активного хлора. *Рабочий раствор гипохлорита* должен содержать 1% активного хлора. Реактив хранить в холодильнике в темной посуде, срок годности 1 месяц.

Раствор гипса. Навеску химически чистого гипса 3 г растворяют в 1 $дм^3$ дистиллированной воды в течение 3 – 4 ч при частом помешивании и фильтруют через плотный фильтр. Берут аликвоту фильтрата (100 $см^3$) и осаждают в ней кальций щелочной смесью (как описано в методе). Избыток щелочной смеси

оттитровывают 0,1 н. HCl. Нормальность раствора гипса находят по уравнению: $N_{Ca} = (N_{щ} V_{щ} - N_{к} V_{к}) / V_{ал}$,

Раствор дитизона в четыреххлористом углероде (ГОСТ 20288 «ч.д.а.») ***с массовой долей 0,04%*** (основной): 40 мг дитизона (ГОСТ 10165 «ч.д.а.») помещают в делительную воронку, приливают 100 см^3 CCl_4 и растворяют энергичным встряхиванием. В полученный раствор добавляют 100 см^3 0,1%-го раствора аммиака и встряхивают 2 – 3 мин. Дитизон переходит в неорганическую фазу, окрашивая аммиачный раствор в оранжевый цвет. Удаляют органический слой, а аммиачный раствор дитизона промывают несколько раз небольшими порциями (по 5 – 10 см^3) четыреххлористого углерода до возникновения зеленой окраски. К полученному аммиачному раствору дитизона приливают 2,5 см^3 разбавленного раствора серной кислоты, встряхивают, добавляют 100 см^3 CCl_4 и снова встряхивают. Органическую фазу сливают в чистую делительную воронку и промывают несколько раз бидистиллированной водой для удаления серной кислоты. Раствор дитизона фильтруют в темную склянку и хранят в холодильнике.

В день проведения анализа готовят ***рабочий 0,0012%-ный раствор дитизона***: 15 см^3 основного 0,04%-го раствора дитизона помещают в мерную колбу объемом 500 см^3 и доливают до метки четыреххлористым углеродом.

Раствор дитизона в четыреххлористом углероде с массовой долей 0,05% (основной): 50 мг дитизона (ГОСТ 10165 «ч.д.а.») помещают в делительную воронку объемом 250 см^3, приливают 100 см^3 CCl_4 и растворяют энергичным встряхи-ванием. В полученный раствор добавляют 100 см^3 0,1%-го раствора аммиака и встряхивают 2 – 3 мин. Дитизон переходит в неорганическую фазу, окрашивая аммиачный раствор в оранжевый цвет. Удаляют органический слой, а аммиачный раствор дитизона промывают несколько раз небольшими порциями (по 5 – 10 см^3) четыреххлористого углерода до возникновения зеленой окраски. К полученному аммиачному раствору дитизона приливают 2,5 см^3 разбавленного раствора серной кислоты, встряхивают, добавляют 100 см^3 CCl_4 и снова встряхивают. Органическую фазу сливают в чистую делительную воронку и промывают несколько раз бидистиллированной водой для удаления серной кислоты. Раствор дитизона фильтруют в темную склянку и хранят в холодильнике.

Раствор дифениламина (индикатор): 0,5 г дифениламина растворяют в 100 см^3 H_2SO_4 (d=1,84), к раствору медленно добавляют 20 см^3 дистиллированной воды.

Раствор диэтилдитиокарбамата свинца в четыреххлористом углероде: 332 г диэтилдитиокарбамата натрия (ГОСТ 8864 «х.ч.») помещают в делительную воронку, добавляют 500 см^3 четыреххлористого углерода (ГОСТ 20288 «ч.д.а.»), 50 см^3 раствора азотнокислого свинца [486 мг азотнокислого свинца (ГОСТ 4236) растворяют в 100 см^3 бидистиллированной воды]. Содержимое воронки встряхивают в течение 5 мин. После разделения фаз нижний органический слой фильтруют через сухой очищенный от микроэлементов фильтр. Хранят в склянке из темного стекла в холодильнике.

Раствор железа (II) сернокислого 7-водного (ГОСТ 4148, «ч.д.а.») концентрации 0,2 моль/дм^3 (0,2 н.); готовят следующим образом: 55,6 г железа (II) сернокислого смывают 100 см^3 воды в мерную колбу вместимостью 1 дм^3, добавляют 8 г хлористого натрия, 100 см^3 раствора серной кислоты, разбавленной 1:1 и 500 см^3 воды; после растворения соли объем раствора доводят водой до метки и перемешивают.

Раствор $KMnO_4$ 0,1 н. (для установления титра соли Мора): раствор готовится обычным методом, а его титр устанавливается по 0,1 н. раствору перекристаллизованного щавелевокислого натрия ($Na_2C_2O_4$).

Раствор калия-натрия виннокислого (сегнетовой соли) 50%: 50 г соли растворяют в 50 $см^3$ безаммиачной дистиллированной воды. Проверяют приготовленный раствор на содержание иона аммония, добавляя реактив Несслера. В случае его присутствия в раствор прибавляют КОН или NaOH (до щелочной реакции по фенолфталеину), после чего раствор кипятят до начала образования корки солей на стенках стакана. Раствор разбавляют безаммиачной водой до прежнего объема и повторяют пробу на ион аммония. Для связывания следов аммиака в раствор сегнетовой соли приливают 5 $см^3$ реактива Несслера.

Раствор калия хлористого 1 М: 74,5 г хлористого калия растворяют в 1 $дм^3$ дистиллированной безаммиачной воды. При загрязнении хлористого калия аммонийными солями раствор кипятят с КОН, затем соль перекристаллизовывают. Раствор не должен окрашиваться при добавлении фенолфталеина и реактива Несслера.

Раствор калия хлористого (KCl) концентрации 1 моль/$дм^3$ (1 н.) (с pH 5,6 – 6,0): 75 г хлористого калия (ГОСТ 4234, «х.ч.» или «ч.д.а.»), взвешенного с погрешностью не более 0,1 г растворяют в дистиллированной воде (ГОСТ 6709) и доводят объем до 1000 $см^3$ и измеряют pH. При необходимости заданное значение pH получают прибавлением раствора гидроокиси калия (ГОСТ 24363 «х.ч.» или «ч.д.а.», раствор массовой концентрации 100 г/$дм^3$.) или раствора соляной кислоты (по ГОСТ 3118 «х.ч.» или «ч.д.а.», раствор с массовой долей 10%).

Раствор калия хлористого с концентрацией хлорида 0,1 моль/$дм^3$: 7,456 г хлористого калия, прокаленного до постоянной массы при температуре 500°С, взвешивают с погрешностью не более 0,001 г, помещают в мерную колбу вместимостью 1000 $см^3$ и растворяют в дистиллированной воде, доводя объем раствора до метки. Приготовленный раствор тщательно перемешивают. Раствор хранят в склянке с притертой пробкой не более 1 года. В случае помутнения, образования хлопьев, осадка, раствор заменяют свежеприготовленным.

Раствор калия хлористого концентрации с (KCl) = 0,01 моль/$дм^3$ (0,01 н.): 0,746 г хлористого калия (ГОСТ 4234, «х.ч.») прокаленного до постоянной массы при температуре 500°С, взвешивают с погрешностью не более 0,001 г, помещают в мерную колбу вместимостью 1000 $см^3$ и растворяют в дистиллированной воде, доводя объем до метки. Приготовленный раствор тщательно перемешивают.

Раствор калия хромовокислого $K_2Cr_2O_7$ 0,4 н. в разбавленной 1:1 серной кислоте (хромовая смесь): 40±0.1 г тонко измельченного в ступке двухромовокислого калия растворяют в дистиллированной воде, отфильтровывают через бумажный фильтр в мерную колбу на 1 $дм^3$, доводят до метки, переносят раствор в фарфоровый стакан на 1 $дм^3$ или в колбу из термостойкого стекла, куда осторожно приливают 1 $дм^3$ концентрированной H_2SO_4. Во избежание сильного разогревания и разбрызгивания жидкости при смешивании серную кислоту приливают к водному раствору H_2SO_4 частями с интервалами 15 – 20 мин. и при осторожном перемешивании. Смесь накрывают стеклом и оставляют до полного охлаждения, вновь тщательно перемешивают и переливают в склянку из темного стекла с притертой пробкой для хранения.

Раствор кальция углекислого концентрации с (1/2 Ca^{2+}) = 0,6 моль/$дм^3$ (0,6 н.): 30,02 г углекислого кальция (ГОСТ 4530, «х.ч.»), высушенного до постоянной массы при температуре 100-105°С, взвешивают с погрешностью не более 0,01 г,

помещают в мерную колбу вместимостью 1000 $см^3$. приливают 120 $см^3$ раствора соляной кислоты с массовой долей 25% и после полного растворения навески приливают 500 $см^3$ дистиллированной воды. В раствор добавляют 75 г хлористого калия, взвешенного с погрешностью не более 0,1 г. дистиллированной водой доводят объем до метки и тщательно перемешивают. Раствор хранят в склянке с притертой пробкой не более 1 года.

Раствор кальция углекислого концентрации с (1/2 Ca^{2+}) = 0,05 моль/$дм^3$ (0,05 н.): 2,502 г углекислого кальция (ГОСТ 4530, «х.ч.»), высушенного до постоянной массы при температуре 100-105°С, взвешивают с погрешностью не более 0,001 г, помещают в мерную колбу вместимостью 1000 $см^3$ и приливают 10 $см^3$ соляной кислоты, разбавленной 1 : 1 дистиллированной водой. После полного растворения навески дистиллированной водой доводят объем до метки и тщательно перемешивают. Раствор хранят в склянке с притертой пробкой не более 3 мес.

Раствор кальция хлористого концентрации с(1/2 Ca^{2+}) = 0,05 моль/$дм^3$ (0,05 н.): 2,497 г кальция хлористого (ГОСТ 4530, «х.ч.»), высушенного до постоянной массы при температуре 105°С, взвешивают с погрешностью не более 0,001 г и помещают в мерную колбу вместимостью 1000 $см^3$. Приливают 10 $см^3$ раствора соляной кислоты с массовой долей 25% и после растворения навески доводят объем раствора до метки дистиллированной водой. Приготовленный раствор тщательно перемешивают. Раствор хранят в склянке с притертой пробкой не более 1 года. В случае помутнения, образования хлопьев, осадка раствор заменяют свежеприготовленным.

Раствор комплекса бария с нитхромазо: 0,3893 г реактива (нитхромазо кислоты) растворить в 100 $см^3$ бидистиллированной воды. 0,1222 г $BaCl_2 \cdot 2H_2O$ растворить в 100 $см^3$ бидистиллированной воды. Перед анализом в мерную колбу на 200 $см^3$ взять по 5 $см^3$ этих растворов, добавить 10 $см^3$ 0,1 н. раствора HCl, 80 $см^3$ воды, 100 $см^3$ ацетона или этилового спирта и перемешать.

Раствор магния (хлористого) концентрации с(1/2 Mg^{2+}) =0,2 моль/$дм^3$ (0,2 н.): 4,031 г окиси магния (ГОСТ 4526, «ч.д.а.»), прокаленной до постоянной массы при температуре 500°С, взвешивают с погрешностью не более 0.001 г, помещают в мерную колбу вместимостью 1000 $см^3$, приливают 80 $см^3$ раствора соляной кислоты с массовой долей 25% и после полного растворения навески приливают 500 $см^3$ дистиллированной воды. Добавляют в раствор 75 г хлористого калия, взвешенного с погрешностью не более 0,1 г, дистиллированной водой доводят объем до метки и тщательно перемешивают. Раствор хранят в склянке с притертой пробкой не более 1 года.

Раствор магния (хлористого) концентрации с(1/2 Mg^{2+}) = 0,025 моль/$дм^3$ (0,025 н.): в мерную колбу вместимостью 1000 $см^3$ помещают 0,504 г окиси магния (ГОСТ 4526, «ч.д.а.»), прокаленной до постоянной массы при температуре 500°С и взвешенной с погрешностью не более 0.001 г, и приливают 10 $см^3$ соляной кислоты, разбавленной дистиллированной водой 1:1 (или с массовой долей 25%). После полного растворения навески дистиллированной водой доводят объем до метки и тщательно перемешивают. Раствор хранят в склянке с притертой пробкой не более 3 мес.

Раствор натрия серноватистокислого ($Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$) или ***тиосульфата*** (ГОСТ 4215). ***с массовой долей 50%.*** 50 г реактива растворяют в бидистиллированной воде и доводят объем до 100 $см^3$. Делают проверку на чистоту.

Раствор натрия сернокислого концентрации $c(\frac{1}{2}Na_2SO_4)$ = 0,2 моль/дм³ (0,2 н.): 14.2 г безводного сернокислого натрия, высушенного до постоянной массы при температуре 100 – 105°С, взвешивают с погрешностью не более 0,1 г, помещают в мерную колбу вместимостью 1000 см³ и растворяют в дистиллированной воде, доводя объем раствора до метки. Приготовленный раствор тщательно перемешивают. Раствор хранят в склянке с притертой пробкой не более 3 мес. В случае помутнения, образования хлопьев, осадка раствор заменяют свежеприготовленным.

Раствор натрия сернокислого с массовой концентрацией серы 0,1 мг/см³: 0,443 г безводного сернокислого натрия (ГОСТ 4166), высушенного до постоянной массы при температуре 100 – 105°С, взвешивают с погрешностью не более 0,001 г, помещают в мерную колбу вместимостью 1000 см³ и растворяют в растворе хлористого калия концентрации 1,0 моль/дм³, доводя объем раствора до метки. Приготовленный раствор тщательно перемешивают.

Раствор хранят в склянке с притертой пробкой не более 3 мес.

Раствор натрия сернистокислого (щелочного): (40,0±0,1) г безводного или (80,0 ± 0,1) г семиводного сернистокислого натрия растворяют в 700 см³ воды. (10,0±0,1) г гидроокиси калия растворяют в 300 см³ воды. Приготовленные растворы смешивают.

Раствор натрия уксуснокислого с массовой долей 20%: 200 г реактива (натрия лимоннокислого пятиводного) растворяют в 800 см³ бидистиллированной воды. Полученный раствор очищают от меди (см. с. 238) и хранят в холодильнике не более 1 мес.

Раствор натрия уксуснокислого концентрации 1,0 моль/дм³ (с pH 8,3-8,4): (82,0±0,1) г безводного или (136,0±0,1) г трехводного уксуснокислого натрия ($CH_3COONa \cdot 3H_2O$) растворяют в 400-500 см³ дистиллированной воды, перенести в мерную колбу ёмкостью 1 дм³и доводят до метки водой. Для проверки pH берут пипеткой 20 см³ приготовленного раствора, прибавляют 1 каплю фенолфталеина. Окраска раствора должна быть слабо-розовой. Если окраски нет (pH менее 8,3), прибавляют по каплям раствор гидроокиси натрия концентрации 100 г/дм³, если окраска слишком интенсивная (если больше 8,4) – прибавляют по каплям раствор уксусной кислоты с массовой долей 10%. Раствор готовится непосредственно перед проведением анализа.

При отсутствии уксуснокислого натрия раствор готовят смешением равных объемов растворов уксусной кислоты молярной концентрации 2 моль/дм³ и гидроокиси натрия с концентрацией 2 моль/дм³. Требуемое значение pH устанавливают так же, как описано выше. Раствор хранят не более 3 мес.

Раствор натрия хлористого концентрации 0,05 моль/дм³: 2,922 г хлористого натрия («х.ч.» по ГОСТ 4233), прокаленного до постоянной массы при температуре 500°С, взвешивают с погрешностью не более 0,001 г, помещают в мерную колбу вместимостью 1000 см³ и растворяют в растворе уксуснокислого аммония концентрации 1 моль/дм³, доводя объем до метки. Раствор хранят в склянке с притертой пробкой не более 1 г. При появлении мути или осадка раствор заменяют свежеприготовленным.

Раствор натрия хлористого концентрации 0,1 моль/дм³: 5,844 г хлористого натрия («х.ч.» по ГОСТ 4233) прокаленного до постоянной массы при температуре 500°С, взвешивают с погрешностью не более 0,001 г и растворяют в этиловом спирте, разбавленном дистиллированной водой 1:1, доводя объем до метки. Приготовленный раствор тщательно перемешивают. Раствор хранят в

склянке с притертой пробкой не более 1 года. При появлении мути или осадка раствор заменяют свежеприготовленным.

Раствор окрашивающий на присутствие аммиака (запасной): 56,7 г салицилового кислого натрия, 16,7 г виннокислого калия-натрия и 26,7 г гидроокиси натрия помещают в стакан из термостойкого стекла, растворяют в 700 мм дистиллированной воды и кипятят 20 мин для удаления аммиака. После охлаждения в раствор добавляют 0,4 г нитропруссидного натрия. После его растворения объем доводят до 1 дм^3 дистиллированной водой. Раствор хранят не более 2 мес. в холодильнике в склянке из темного стекла.

Раствор окрашивающий с хромазуролом С (запасной): 326 г уксуснокислого натрия (ГОСТ 199, «х.ч.» или «ч.д.а.»), взвешенного с погрешностью не более 1 г, растворяют в примерно 800 см^3 дистиллированной воды, приливают 5 см^3 концентрированной уксусной кислоты (по ГОСТ 61 «х.ч.» или «ч.д.а.») и тщательно перемешивают. В полученной буферной смеси растворяют 1 г хромазурола С, взвешенного с погрешностью не более 0,1 г, дистиллированной водой доводят объем до 1000 см^3, тщательно перемешивают и оставляют до следующего дня. Затем раствор фильтруют через складчатый бумажный фильтр и переливают в склянку из темного стекла с притертой пробкой. Раствор хранят не более 3 мес.

Раствор олова хлористого: на аналитических весах берут навеску соли $SnCl_2 \cdot 2H_2O$ – 0,25 г (или $SnCl_2$ – 200 мг), помещают в стеклянную пробирку, приливают 10 см^3 10%-го раствора *HCl* в пробирке, которую ставят на водяную баню (в химический стакан с водой) и кипятят до полного растворения навески. Используют только свежеприготовленный реактив.

Раствор пирогаллола: 12 г пирогаллола растворяют в 50 см^3 воды, отдельно 180 г КОН растворяют в 300 см^3 воды. Оба раствора смешивают, переносят в склянку Тищенко и присоединяют при помощи резиновой и стеклянной трубок к бутыли с раствором соли Мора.

Раствор поливинилового спирта массовой концентрации 20 г/дм^3: в коническую колбу вместимостью 1000 см^3 помещают 20 г поливинилового спирта, взвешенного с погрешностью не более 0,01 г, приливают 1000 см^3 дистиллированной воды, закрывают колбу резиновой пробкой с клапаном Бунзена и нагревают на водяной бане при периодическом помешивании до полного растворения поливинилового спирта. Если раствор получается мутным, его фильтруют через бумажный фильтр. Раствор хранят в склянке с притертой пробкой не более 1 мес. При появлении мути раствор следует профильтровать. Допускается вместо раствора поливинилового спирта использовать раствор желатина массовой концентрации 5 г/дм^3, приготовленный в день проведения анализа.

Раствор с ксиленоловым оранжевым (запасной): 10,9 г уксуснокислого натрия, взвешенного с погрешностью не более 0,1 г, помещают в мерную колбу вместимостью 1000 см^3 и растворяют в 500 см^3 дистиллированной воды. Затем прибавляют 58 см^3 концентрированной уксусной кислоты, перемешивают, в полученном растворе растворяют 0,4 г ксиленолового оранжевого, взвешенного с погрешностью не более 0,01 г, и дистиллированной водой доводят объем раствора до метки. Раствор хранят в склянке с притертой пробкой не более 1 мес.

Раствор 8-оксихинолина: (2,50±0,01) г 8-оксихинолина (ГОСТ 5847, «ч.») помещают в мерную колбу вместимостью 1000 см^3, добавляют приблизительно 500 см^3 дистиллированной воды, 3 см^3 серной кислоты, растворяют реактив и

доводят объем раствора до метки дистиллированной водой. Раствор хранят не более 1 мес.

Раствор ПАН [1-(2-пиридилазо)-2-нафтол– индикатор] *с массовой долей 0,2%*: для проведения анализа пригоден реактив, имеющий оранжево-красный цвет. Реактив темно-коричневого цвета очищают от примесей перекристаллизацией из спирто-водной смеси. Для этого 10 г реактива растворяют при нагревании до кипения в 500 $см^3$ изопропилового или этилового спирта. После охлаждения раствор фильтруют через бумажный фильтр. Затем к подогретому до 60°С фильтрату приливают 1 $дм^3$ воды той же температуры и оставляют на сутки при комнатной температуре. Выпавший осадок отфильтровывают, промывают три раза 10-20 $см^3$ спирто-водной 1:2 смеси и сушат в течение 2 ч при температуре 80°С и затем еще в течение 2 ч при температуре 120°С. Для приготовления 0,2% раствора ПАН 2 г реактива помещают в стакан и растворяют в этиловом спирте или ацетоне стеклянной палочкой. Прозрачный раствор сливают в мерную колбу объемом 1000 $см^3$, а оставшиеся частички растворяют в новой порции растворителя и присоединяют к раствору в мерной колбе. После растворения всей навески реактива объем доводят до метки растворителем, раствор перемешивают и фильтруют. Срок хранения не более 1 мес.

Раствор серебра азотнокислого $AgNO_3$ 0,01 н.: 1,7 г химически чистой соли $AgNO_3$ растворяют в дистиллированной воде и доводят в колбе на 100 $см^3$ до метки, после чего взбалтывают для перемешивания; 10 $см^3$ приготовленного раствора разбавляют до 100 $см^3$ и получают 0,01 н. раствор. Титр азотнокислого серебра устанавливают по хлористому натрию: в три фарфоровые чашки помещают по 20 $см^3$ точно 0,1 н. раствора хлористого натрия (фиксанал), прибавляют в каждую чашку по 2 – 3 капли хромовокислого калия (10% водный раствор) в качестве индикатора и титруют содержимое чашек из бюретки 0,1 н. раствором $AgNO_3$ до появления устойчивого красноватого окрашивания (азотнокислое серебро добавляют по каплям). Для установления поправки к титру азотнокислого серебра берут среднее из результатов трех титрований.

Раствор серебра азотнокислого концентрации 0,02 моль/$дм^3$: 3,4 г азотнокислого серебра (ГОСТ 1277 «х.ч.» или «ч.д.а.»), взвешенного с погрешностью не более 0,1 г, помещают в мерную колбу вместимостью 1000 $см^3$ и растворяют в дистиллированной воде, доводя объем до метки. Точную концентрацию раствора проверяют титрованием. Для этого отбирают 10 $см^3$ раствора хлорида концентрации 0,01 моль/$дм^3$ в конечную колбу, приливают 1 $см^3$ раствора хромовокислого калия с массовой долей 10% и титруют раствором азотнокислого серебра до перехода окраски от желтой к красно-бурой. Титрование проводят три раза и для расчета точной концентрации используют среднее арифметическое результатов трех титрований. Точную концентрацию раствора азотнокислого серебра (X), моль/$дм^3$, вычисляют по формуле $X = 0{,}01 \cdot V : V_1$, где $0{,}01$ – концентрация раствора хлорида, взятого для титрования, моль/$дм^3$; V – объем раствора хлорида, взятый для титрования, $см^3$; V_1 – объем раствора азотнокислого серебра, пошедший на титрование, $см^3$.

Раствор хранят в склянке оранжевого стекла с притертой пробкой. Концентрацию раствора проверяют титрованием не реже одного раза в неделю.

Раствор серной кислоты 0,1 н.: 2,8 $см^3$ концентрированной серной кислоты влить в дистиллированную воду и довести объем до 1 $дм^3$. Концентрацию приготовленной кислоты проверить титрованием раствором щелочи в присутствии фенолфталеина. Допускается для анализа нормальность кислоты от 0,09 до 0,11 н.

Раствор серной кислоты 0,5 н.: 14 см^3 H_2SO_4 (d = 1,84) помещают в мерную колбу на 1 дм^3 прилить 800 см^3 дистиллированной воды и после охлаждения доводят до метки дистиллированной водой. Перемешивают.

Раствор серной кислоты 2 н.: 56 см^3 концентрированной H_2SO_4 помещают в мерную колбу на 1 дм^3 приливают 800 см^3 дистиллированной воды, перемешивают и после охлаждения доводят до метки дистиллированной водой. Перемешивают.

Раствор H_2SO_4 1%-й: **5,6 см^3 H_2SO_4 конц.** (уд. вес 1,84) наливают в мерную колбу емкостью 1 дм^3, в которую предварительно наливают 500 см^3 дистиллированной воды. Доводят до метки и взбалтывают.

Раствор соли Мора *концентрации $c[(NH_4)SO_4\ FeSO_4 \cdot H_2O]$* **= *0,1 моль/дм^3*** *или раствора железа (II) сернокислого 7-водного концентрации $c\ (FeSO_4 \cdot H_2O) = 0,1$ моль/дм^3:* (40,0 ± 0,1) г соли Мора (ГОСТ 4208) или (27,8 ± 0,1) г семиводного сернокислого железа (II) (ГОСТ 4148) растворяют в 700 см^3 раствора серной кислоты концентрации $c\ (1/2\ H_2SO_4) = 1$ моль/дм^3, фильтруют через двойной складчатый фильтр в мерную колбу вместимостью 1 дм^3 и доводят объем до метки водой. Концентрацию раствора проверяют титрованием по раствору марганцовокислого калия концентрации $c(1/5\ KMnO_4)$ = 0,1 моль/дм^3, приготовленному из стандарт-титра. Для титрования в три конические колбы отмеривают с помощью бюретки по 10 см^3 приготовленного раствора восстановителя, приливают по 1 см^3 концентрированной серной кислоты, 50 см^3 воды и титруют раствором марганцовокислого калия концентрации до появления слабо-розовой окраски, не исчезающей в течение 1 мин. Для вычисления коэффициента поправки используют среднее арифметическое значение результатов трех титровании.

Коэффициент поправки *(K.)* вычисляют по уравнению $K = \frac{V_1}{V}$,

где V_1 – объем раствора марганцовокислого калия, израсходованный на титрование, см^3; V – объем раствора восстановителя, отобранный для титрования, см^3.

Раствор хранят в бутыли из темного стекла, к которой с помощью сифона присоединяют бюретку. Для предохранения раствора от окисления кислородом воздуха к бутыли присоединяют склянку Тищенко с щелочным раствором сернистокислого натрия. Коэффициент поправки проверяют не реже чем через 3 дня.

Раствор соли Мора 0,2 н. *$[(NH_4)_2SO_4 \cdot FeSO_4 \cdot 6H_2O]$:* 80 г соли Мора (ГОСТ 4208) заливают 1 н. раствором H_2SO_4 (20 см^3 концентрированной H_2SO_4 на 1 дм^3 воды) на 2/3 объема колбы. Раствор перемешивают до полного растворения соли, отфильтровывают через складчатый фильтр, добавляют дистиллированную воду до метки и перемешивают. Хранят в бутыли, снабженной сифоном со стеклянным краном для подачи в бюретку и склянкой Тищенко со щелочным раствором пирогаллола для предохранения раствора соли Мора от окисления кислородом воздуха.

Титр соли Мора сравнительно неустойчив, несмотря на пирогаллоловый предохранитель, так как в ее состав входит закисное железо, поэтому титр необходимо проверять каждый раз перед началом работы.

Определение нормальности соли Мора. В коническую колбу на 250 см^3 пипеткой вносят 1 см^3 концентрированной серной кислоты, прибавляют из бюретки 10 см^3 рабочего раствора соли Мора и приливают цилиндром 50 см^3 дистиллированной воды и оттитровывают 0,1 н. раствором $KMnO_4$ до слабо-розовой окраски.

Титр соли Мора равен *а·б/в*, где *а* – количество $KMnO_4$, пошедшее на титрование 10 см^3 соли Мора, см^3; *б* – титр $KMnO_4$; *в* – количество соли Мора, взятое для титрования раствором перманганата, см^3.

Раствор соляной кислоты HCl 0,1 н. Готовят из фиксанала или следующим образом: в мерную колбу на 1 дм^3 налить 500 см^3 дистиллированной воды, прилить 8,2 см^3 концентрированной *HCl* (удельный вес 1.19). Довести до метки водой и хорошо взболтать. Установить нормальность приготовленной кислоты по буре, янтарной кислоте, щавелевой кислоте или по щёлочи известной нормальности. Для этого взять 10 см^3 приготовленного раствора *HCl* и оттитровать по фенолфталеину (2 – 3 капли) из бюретки 0,1 н. щёлочью точно установленной концентрации до слабо-розовой окраски. Нормальность кислоты рассчитать по формуле: $H_к = V_щ \cdot H._щ : V_к$, где: $V_щ$ – объём щёлочи (см^3), пошедшей на титрование, $V_к$ – объём кислоты (см^3), $H._щ$ – нормальность щелочи.

Раствор соляной кислоты концентрации c(HCl) = 0,2 моль/дм^3: 16 см^3 соляной кислоты (ГОСТ 3118) вливают при перемешивании в воду и доводят объем водой до 1 дм^3. Точную концентрацию полученного раствора устанавливают титрованием. Для этого в 3 конические колбочки отбирают по 5 см^3 приготовленного раствора, прибавляют по 50 см^3 воды, 2 капли фенолфталеина (по ТУ 6-09-5360 концентрации 10 г/дм^3 в этаноле) и титруют раствором гидроокиси натрия (ГОСТ 4328) концентрации *c*(NaOH) = 0,1 моль/дм^3 до появления слабо-розовой окраски, не исчезающей в течение 1 мин. Вычисление точной концентрации *c*, используя среднее арифметическое значение трех титрований, проводят по уравнению: $c = c_1 . V : V_1$, где c_1 – концентрация раствора гидроокиси натрия, моль/дм^3; V – объем раствора гидроокиси натрия, пошедший на титрование, см^3; V_1- объем раствора соляной кислоты, отобранный для титрования, см^3.

Раствор HCl* 0,2 н.: готовят из фиксанала или 16,4 см^3 конц. *HCl* (уд. вес 1.19) наливают в мерную колбу 1 дм^3, в которую предварительно наливают 500 см^3 дистиллированной воды. Доводят до метки водой и хорошо взбалтывают. Нормальность кислоты должна быть в пределах от 0,190 до 0.21.

Раствор соляной кислоты HCl 10%-й: на приготовление 1 дм^3 раствора этой концентрации расходуется 236,4 см^3 концентрированной HCl (d = 1,19).

Раствор стронция хлористого массовой концентрации 20 мг/см^3: 60.8 г 6-водного хлористого стронция (ГОСТ 4140, «ч.д.а.»), взвешенного с погрешностью не более 0,1 г, растворяют в 600 см^3 дистиллированной воды, приливают 250 см^3 концентрированной соляной кислоты (ГОСТ 3118, «х.ч.» или «ч.д.а.»), дистиллированной водой доводят объем раствора до 1000 см^3 и тщательно перемешивают. Раствор хранят в склянке с притертой пробкой не более 1 года.

Раствор стронция хлористого массовой концентрации 30 мг/см^3: 91,2 г 6-водного хлористого стронция (ГОСТ 4140, «ч.д.а.»), взвешенного с погрешностью не более 0,1 г, растворяют в 500 см^3 дистиллированной воды, приливают 400 см^3 концентрированной соляной кислоты (ГОСТ 3118, «х.ч.» или «ч.д.а.»), охлаждают и дистиллированной водой доводят объем раствора до 1000 см^3 и тщательно перемешивают. Раствор хранят в склянке с притертой пробкой не более 1 года.

Раствор титанового желтого массовой концентрации 0,5 г/дм^3: 0,5 г титанового желтого, взвешенного с погрешностью не более 0,01 г, помещают в мерную колбу вместимостью 1000 см^3 и растворяют в дистиллированной воде, доводя объем до метки. Приготовленный раствор тщательно перемешивают и фильтруют через складчатый бумажный фильтр. Раствор хранят в склянке оранжевого стекла с притертой пробкой в холодильнике не более недели.

Раствор трилона Б 0,01 М: 0,930 г заводского реактива трилона Б растворяют в 1 $дм^3$ дистиллированной воды. Титр устанавливают по раствору сернокислого магния, приготовленного из фиксанала. Для проверки титра трилона 20 $см^3$ раствора сернокислого магния переносят пипеткой в коническую колбу емкостью 250 $см^3$, добавляют 100 $см^3$ дистиллированной воды, 5 $см^3$ аммиачного буфера, 10 – 15 мг хромогена черного и титруют раствором трилона Б до перехода вишнево-красной окраски в голубую. Аммиачный буфер – 70 г NH_4Cl растворяют в дистиллированной воде, добавляют 570 $см^3$ 25%-го раствора NH_4OH и объем доводят до 1 $дм^3$.

Раствор трилона Б 0,1 М: 9,3 г трилона Б растворить в 1 $дм^3$ дистиллированной воды. Титр устанавливается по раствору сернокислого магния, приготовленного из фиксанала. Для проверки титра трилона 20 $см^3$ приготовленного раствора сернокислого магния перенести пипеткой в коническую колбу емкостью 250 $см^3$, прибавить 100 $см^3$ дистиллированной воды, 5 $см^3$ аммиачного буфера, 10 – 15 мг хромогена черного и титровать раствором трилона Б до перехода вишнево-красной окраски в голубую.

Раствор трилона Б концентрации с (½Na_2ЭДТА) = 0,05 моль/$дм^3$ (0,05 н.): 9,3 г трилона Б (соли динатриевой этилендиамин-N,N,N′,N′-тетрауксусной кислоты двухводной, ГОСТ 10652 «ч.д.а.») взвешивают с погрешностью не более 0,1 г, помещают в мерную колбу вместимостью 1000 $см^3$ и растворяют в дистиллированной воде, доводя объем до метки. Приготовленный раствор тщательно перемешивают и устанавливают точную концентрацию раствора титрованием. Для этого в химический стакан отбирают по 5 $см^3$ раствора кальция *(0,05 н.)* и раствора магния *(0,025 н.)*. Стакан помещают на магнитную мешалку и при перемешивании добавляют 50 $см^3$ дистиллированной воды, 0,5 $см^3$ раствора гидроксиламина гидрохлорида, 2 $см^3$ раствора гидроокиси натрия, несколько кристаллов диэтилдитиокарбамата натрия, 2-3 капли раствора хрома кислотного темно-синего и титруют кальций до перехода розовой окраски в сиреневую. Затем нейтрализуют оттитрованный раствор соляной кислотой, разбавленной 1 : 4 дистиллированной водой до исходной розовой окраски, стараясь, чтобы избыток кислоты не превышал 1 – 2 капель. Прибавляют 5 $см^3$ хлоридно-аммиачного буферного раствора и титруют магний раствором трилона Б до перехода розовой окраски в синюю.

Аналогично титруют холостую пробу. При отсутствии магнитной мешалки титрование проводят в конической колбе, титруемый раствор перемешивают вручную.

Если трилон Б используют только для определения кальция, концентрацию устанавливают по раствору кальция. В качестве индикатора используют хром кислотный темно-синий или мурексид.

Точную концентрацию раствора трилона Б c (1/2 Na_2ЭДТА) по кальцию или магнию (X) в моль/$дм^3$ вычисляют по формуле $X = c \cdot 5/(V-V_0)$, где c – концентрация раствора кальция или магния, моль/$дм^3$; 5 – объем раствора кальция или магния, взятый для титрования, $см^3$; V – объем раствора трилона Б, израсходованный на титрование раствора кальция или магния, $см^3$; V_0 – объем раствора трилона Б, израсходованный на титрование холостой пробы, $см^3$. Допускается приготовление раствора трилона Б из стандарт-титра c(1/2 Na_2ЭДТА)= 0.1 моль /$дм^3$ (0,1 н.)

(Точную концентрацию раствора трилона Б* устанавливают титрованием по раствору сернокислого магния Для этого 5 $см^3$ раствора сернокислого магния концентрации c(½$MgSO_4$) = 0.1 моль/$дм^3$ отбирают пипеткой в химический стакан. Стакан помещают на магнитную мешалку и при перемешивании

приливают 50 $см^3$ дистиллированной воды, 5 $см^3$ хлоридно-аммиачного буферного раствора, 5 капель раствора хрома кислотного темно-синего и титруют раствором трилона Б до перехода окраски от розовой к синей. Титрование проводят три раза и для расчета точной концентрации используют среднее арифметической результатов трех титрований.

Точную концентрацию трилона Б (X), моль/$дм^3$, вычисляют по формуле:

$X = 0{,}1 \cdot 5 / V$, где 0,1 – концентрация раствора сернокислого магния, моль/$дм^3$; 5 – объем раствора сернокислого магния, взятый для титрования, $см^3$; V – объем раствора трилона Б, израсходованный на титрование, $см^3$.)

Раствор трилона Б с массовой долей 3%: в стакан приливают около 500 $см^3$ дистиллированной воды помещают 30 г трилона Б и растворяют при нагревании. Раствор переносят в мерную колбу объемом 1000 $см^3$ и после охлаждения доводят до метки дистиллированной водой.

Раствор уксусной кислоты концентрации $c(CH_3COOH)=0{,}5$ моль/$дм^3$: 30 $см^3$ уксусной кислоты (ГОСТ 61) при перемешивании вливают в мерную колбу с водой и доводят объем водой до 1 $дм^3$. Концентрацию проверить титрованием раствором *NaOH* по фенолфталеину.

Раствор Феллинга. а) 40 г $CuSO_4$ растворяют в 960 $см^3$ дистиллированной воды, фильтруют через бумажный фильтр; б) 200 г сегнетовой соли (калий, натрий виннокислый кислый) растворяют в дистиллированной воде, прибавляют 150 г КОН или NaOH и доводят до 1 $дм^3$. (растворять рекомендуется в фарфоровом стакане, так как реакция сопровождается выделением тепла). При необходимости реактив фильтруют через асбестовый фильтр. Реактив лучше готовить непосредственно перед анализом.

Раствор формальдоксима (основной) – в мерную колбу объемом 1000 $см^3$, заполненную на 2/3 дистиллированной водой, помещают 123 г солянокислого гидроксиламина (ГОСТ 5456, «ч.д.а.») и 172 $см^3$ 37%-го раствора формалина (ГОСТ 1625 «техн.»). Объем доводят до метки дистиллированной водой. Полученный раствор хранят не более 1 мес.

Рабочий раствор формальдоксима готовят в день проведения анализа. Для этого в мерную колбу объемом 500 $см^3$ помещают 100 $см^3$ основного раствора формальдоксима и доводят объем до метки дистиллированной водой.

Раствор хрома кислотного темно-синего с массовой концентрацией 5 мг/$см^3$: 0,5 г хрома кислотного темно-синего взвешивают с погрешностью не более 0,01 г, помещают в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$, добавляют 10 $см^3$ хлоридно-аммиачного буферного раствора и доводят объем до метки этиловым спиртом, разбавленным 1 : 4 дистиллированной водой. Раствор хранят в склянке оранжевого стекла с притертой пробкой не более 6 мес.

Реактив Грисса: готовят смешиванием равных объемов растворов «а» и «б»

«а»: 0,5 г сульфаниловой кислоты (сухого реактива, «ч.д.а.», ГОСТ 5821) растворяют в 150 $см^3$ 10%-го раствора уксусной кислоты (конц., «х.ч.», ГОСТ 61);

«б»: 0.1% раствор α-нафтиламина в уксусной кислоте: 0,1 г альфанафтиламина («ч.д.а.», ГОСТ 8827) растворяют при нагревании в 20 $см^3$ дистиллированной воды, фильтруют и смешивают со 150 $см^3$ 12%-го раствора уксусной кислоты (конц., «х.ч.», ГОСТ 61).

Перед употреблением одну часть раствора «а» смешивают с равной по объему частью раствора «б». Растворы «а» и «б» хранят отдельно.

Нитритный реактив должен быть бесцветным. Если он имеет розовую окраску (от присутствия нитритов), раствор взбалтывают с цинковой пылью и фильтруют.

Реактив Несслера – приготовление в лабораторных условиях: 17 г хлорной ртути (HgCl) растворить в 300 $см^3$ дистиллированной воды и постепенно вливать струей в 35%-й раствор йодистого калия (KI) до тех пор, пока красный осадок йодистой ртути перестанет растворяться. Довести раствор до 1 $дм^3$ 20%-м раствором NaOH и снова прибавлять раствор хлорной ртути до появления неисчезающего осадка. Хорошо взболтать и оставить в темной, плотно закрытой склянке до просветления надосадочной жидкости. Можно отфильтровать через стеклянный фильтр № 3. Образцовый раствор для построения калибровочного графика 0,7640 «х.ч.» NH_4Cl растворить в небольшом количестве дистиллированной воды, довести водой до 1 $дм^3$ в мерной колбе. В 1 $см^3$ этого раствора содержится 0,2 мг N. Для получения рабочего образцового раствора взять 25 $см^3$ в мерную колбу на 500 $см^3$ и долить дистиллированной водой до метки. В 1 $см^3$ этого раствора содержится 0,01 мг N.

Сульфатмолибденовая жидкость ($(NH_4)_2MoO_4 \cdot H_2SO_4$): 2,5% раствор молибденовокислого аммония в серной кислоте. 25 г перекристаллизованного молибденовокислого аммония растворяют в 200 $см^3$ дистиллированной воды при комнатной температуре или при нагревании не выше 60°С; 280 $см^3$ H_2SO_4 конц. (уд. вес 1,84) смешивают с 500 $см^3$. После охлаждения смеси до комнатной температуры оба раствора сливают вместе, вливая раствор серной кислоты в раствор молибденовокислого аммония при постоянном помешивании. Доводят объем полученной смеси растворов дистиллированной водой до 1 $дм^3$. Реактив хранят в темной склянке с притертой пробкой, хранение возможно в течение длительного времени.

Хлоранилат бария: смешать один объем 0,1%-го водного раствора хлораниловой кислоты с одним объемом 5%-го водного раствора $BaCl_2$. После образования осадка раствор декантировать через фильтр и промыть водой до отсутствия реакции на хлор. Осадок для удаления воды промыть этиловым сииртом и высушить при 60°С в вакуумном шкафу. Полученный осадок хлоранилата бария залить 80%-м изоамиловым спиртом в соотношении 1:8 и после 1 ч встряхивания отфильтровать на воронке Бюхнера под вакуумом, промыть этиловым спиртом и досушить в вакуумном шкафу.

Хромовая смесь: см. Раствор калия хромовокислого $K_2Cr_2O_7$ 0,4 н. в разбавленной 1:1 серной кислоте.

Фенилантраниловая кислота (индикатор): 0,2 г кислоты растворяют в 100 $см^3$ 0,2%-го водного раствора Na_2CO_3. Для лучшего смачивания порошка фенилантраниловой кислотой навеску предварительно растирают стеклянной палочкой в фарфоровой ступке с небольшим количеством 0,2%-го раствора соды до сметанообразного состояния, затем добавляют остальное количество раствора соды при тщательном перемешивании.

ПРИЛОЖЕНИЕ

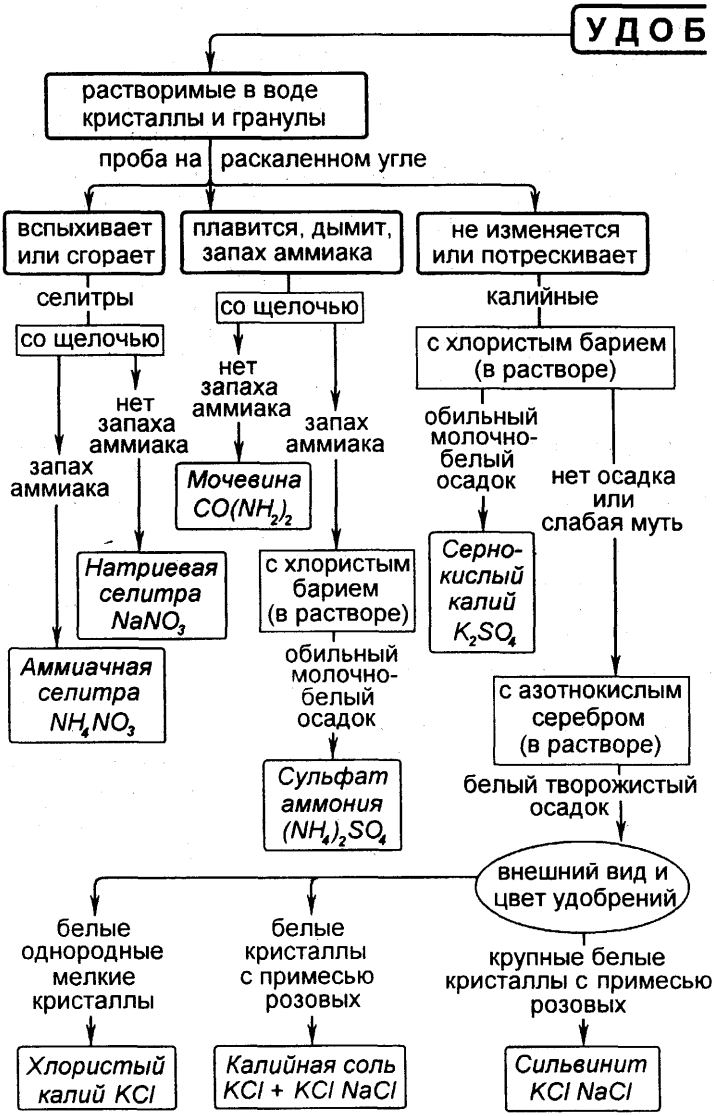
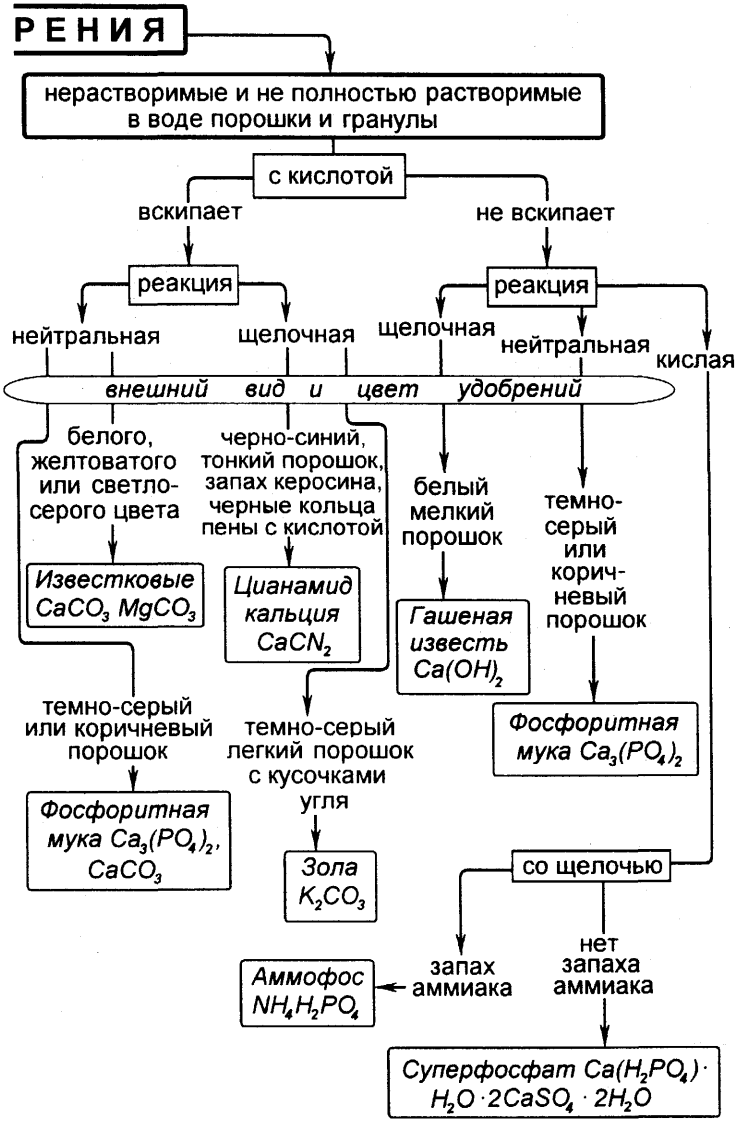

УДОБ
растворимые в воде кристаллы и гранулы
проба на раскаленном угле
вспыхивает или сгорает
плавится, дымит, запах аммиака
не изменяется или потрескивает
селитры
со щелочью
запах аммиака
нет запаха аммиака
Натриевая селитра $NaNO_3$
Аммиачная селитра NH_4NO_3
со щелочью
нет запаха аммиака
Мочевина $CO(NH_2)_2$
запах аммиака
с хлористым барием (в растворе)
обильный молочно-белый осадок
Сульфат аммония $(NH_4)_2SO_4$
калийные
с хлористым барием (в растворе)
обильный молочно-белый осадок
Серно-кислый калий K_2SO_4
нет осадка или слабая муть
с азотнокислым серебром (в растворе)
белый творожистый осадок
внешний вид и цвет удобрений
белые однородные мелкие кристаллы
Хлористый калий KCl
белые кристаллы с примесью розовых
Калийная соль KCl + KCl NaCl
крупные белые кристаллы с примесью розовых
Сильвинит KCl NaCl

СХЕМА РАСПОЗНАВАНИЯ УДОБРЕНИЙ



ПРИЛОЖЕНИЕ – ТАБЛИЦЫ

I. Концентрация наиболее употребляемых растворов кислот и аммиака

Наименование	Удельный вес при 20°С	Массовая доля, %	Нормальность раствора
Аммиак концентрированный	0,907	25,0	13,4
разбавленный	0,957	10,0	6,0
разбавленный	0,977	5,0	3,0
Азотная кислота концентрированная	1,400	67,0	15,0
разбавленная	1,115	20,0	3,5
разбавленная	1,054	10,0	1,7
Серная кислота концентрированная	1,834	95,0	36,0
разбавленная	1,178	25,0	6,0
разбавленная	1,032	5,0	1,2
Соляная кислота концентрированная	1,184	37,0	12,0
разбавленная	1,098	20,0	6,0
разбавленная	1,047	10,0	3,0
Уксусная кислота ледяная	1,050	100,0	17,5
разбавленная	1,013	10,0	1,7
разбавленная	1,005	5,0	0,9
Фосфорная кислота концентрированная	1,700	85,0	14,7
Фтористоводородная кислота концентрированная	1,146	46,6	26,3
Хлорная кислота (15°С)	1,540	60,0	9,2

2. Количество исходных веществ для приготовления 1 л титрованных растворов разной нормальности

Исходное химически чистое вещество	Молекулярная масса	Эквивалентная масса	1 н.	0,5 н.	0,2 н.	0,1 н.	0,05 н.	0,02 н.	0,01 н.	Вещества для установления титра указанных растворов и масса для данной их реакции эквивалентная
H_2SO_4, d = 1,84	98,08	49,04	28 мл	14 мл	5,6 мл	2,8 мл	1,4 мл	0,56 мл	0,28 мл	бура $Na_2B_4O_7$, 10 (перекристаллизованная при t не выше 60°С); 190,7
HCl, d = 1,19	36,46	36,46	82 мл	41 мл	16,4 мл	8,2 мл	4,1 мл	1,64 мл	0,82 мл	
$H_6C_4O_4 \cdot 2H_2O$	126,07	63,4				6,3 г	3,15 г	1,26 г	0,63 г	титрованный раствор $KMnO_4$; 31,61
$KMn0_4$ в кислой среде	158,03	31,61				3,16 г	1,58 г	0,63 г	0,32 г	щавелевокислый натрий Na_2CrO_4; 67,01
NaOH	40,00	40,00	40,0 г	20,0 г	8,0 г	4,0 г	2,0 г	0,80 г	0,40 г	янтарная кислота $H_6C_4O_4$; 59,04
KOH	56,11	56,11	56,11 г	28,06 г	11,2 г	5,60 г	2,8 г	1,12 г	1,56 г	
$Ba(OH)_2 \cdot 8\ H_2O$	315,50	157,75	157,75 г	78,88 г	31,54 г	15,77 г	7,88 г	3,15т	1,58 г	
$AgNO_3$	169,89	169,89	—	—	—	17,00 г	8,50 г	3,40 г	1,70 г	хлористый натрий NaCl; 58,45
$Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$	248,21	248,21	—	—	—	24,80 г	12,40 г	5,00 г	2,50 г	двухромовокислый калий $K_2Cr_2O_7$; 49,04
$Fe_2SO_4\ (NH_4)\ SO_4 \times 6H_2O$ (соль Мора)	392,16	392,16	—	—	78,40 г	39,20 г	19,60 г	7,84 г	3,92 г	титрованный раствор K_2O; 31,61
$K_2Cr_2O_7$	294,22	49,04	—	—	9,18 г	4,90 г	2,45 г	0,98 г	0,49 г	соль Мора; 392,16
Трилон Б	372,25	186,12	—	—	—	18,61 г	9,30 г	3,72 г	1,86 г	сернокислый магний $MgSO_4 \cdot 7H_2O$; 123,25

3. Количество исходных веществ для приготовления процентных растворов кислот и аммиака, мг/л процентного раствора

Исходное вещество	Удельный вес исходного вещества при 15°	Массовая доля исходного вещества, %	25%	20%	10%	2%	1%
HCl	1,19	37,23	634,8	496,8	236,4	45,5	22,6
H_2SO_4	1,84	95,60	167,7	129,0	60,6	11,5	5,6
HNO_3	1,40	65,6	313,0	243,6	115,0	22,0	10,8
CH_3COOH	1,05	99,5	247,8	196,7	97,1	19,2	9,0
NH_4OH	0,91	25,0	1000,0	814,0	422,0	87,2	43,7

4. Буферные смеси для работы с ферментами. Смесь Серенсена II

Состав цитратной смеси			pH	Состав цитратной смеси			pH
цитрат,* мл	0,1 н. HCl, мл	0,1 н. NaOH, мл		цитрат,* мл	0,1 н. HCl, мл	0,1 н. NaOH, мл	
—	10,00	—	1,04	7,00	3,00		4,45
1,00	9,00	—	1,17	8,00	2,00		4,65
2,00	8,00	—	1,42	9,00	1,00		4,83
3,00	7,00	—	1,93	9,50	0,50		4,89
3,33	6,67	—	2,27	10,00	0,00		4,96
4,00	6,00	—	2,97	9,50	—	0,50	5,02
4,50	5,50	—	3,36	9,00	—	1,00	5,11
4,75	5,25	—	3,53	8,00	—	2,00	5,31
5,00	5,00	—	3,69	7,00	—	3,00	5,57
5,50	4,50	—	3,95	6,00	—	4,00	5,97
6,00	4,00	—	4,16	5,50	—	4,50	6,33
		—		5,25	—	4,75	6,68

** 21,008 г кристаллической лимонной кислоты в 200 мл свободного от углекислоты нормального раствора NaOH с разбавлением водой до 1 л.*

5. Буферные смеси для работы с ферментами. Смесь Серенсена III

Состав фосфатной смеси		pH	Состав фосфатной смеси		pH
1/15 M* Na_2HPO_4	1/15 M** KH_2PO_4		1/15 M* Na_2HPO_4	1/15 M** KH_2PO_4	
0,10	9,90	4,94	6,00	4,00	6,98
0,25	9,75	5,29	7,00	3,00	7,17
0,50	9,50	5,59	8,00	2,00	7,38
1,00	9,00	5,91	9,00	1,00	7,73
2,00	8,00	6,24	9,50	0,50	8,04
3,00	7,00	6,47	9,75	0,25	8,34
4,00	6,00	6,64	9,90	0,10	8,67
5,00	5,00	6,81	10,00	0,00	9,18

*1/15 M Na_2HPO_4 – 11,876 г в 1 $дм^3$ воды.
** 1/15 M KH_2PO_4 – 9,078 г в 1 $дм^3$ воды.

6. Буферные смеси для работы с ферментами.
Ацетатные буферные смеси

Для получения растворов с заданным pH надо смешать нормальные растворы в указанных соотношениях (по объему)

Нормальные растворы	pH										
	3,2	3,3	3,8	4,1	4,4	4,7	5,0	5,3	5,6	5,9	6,2
Уксусная кислота	32	16	8	4	2	1	1	1	1	1	1
Уксуснокислый натрий	1	1	1	1	1	1	2	4	8	16	32

7. Буферные смеси для работы с ферментами.
Смесь Серенсена IV

Состав боратной смеси			pH	Состав боратной смеси			pH
борат,* мл	0,1 н. HCl, мл	0,1 н. NaOH, мл		борат,* мл	0,1 н. HCl, мл	0,1 н. NaOH, мл	
4,75	5,25	—	6,37	8,5	1,50	—	9,01
5,00	5,00	—	6,55	9,0	1,00	—	9,09
5,25	4,75	—	7,62	9,5	0,50	—	9,17
5,50	4,50	—	7,94	10,0	0,00	—	9,24
5,75	4,25	—	8,14	9,0	—	1,00	9,36
6,00	4,00	—	8,29	8,0	—	2,00	9,50
6,50	3,50	—	8,51	7,0	—	3,00	9,68
7,00	3,00	—	8,68	6,0	—	4,00	9,97
7,50	2,50	—	8,80	5,0	—	5,00	11,08
8,00	2,00	8,91	4	—			

** 12,404 г борной кислоты растворить в 100 мл 0,10 н. и довести дистиллированной водой до 1 л.*

9. Свойства почвы в зависимости от степени окультуривания по Н. Л. Благовидову (1963)

Свойства почвы	Целина	Слабо-окультуренная	Средне-окультуренная	Хорошо-окультуренная
Гумусовый горизонт, см	7 – 8	12 – 16	18 – 22	24 – 28
Подзолистый горизонт, см	18 – 20	11 – 15	5 – 9	0 – 3
Гумус, %	3 – 4	1,5 – 2,0	2,2 – 3,0	4,0 – 6,0
Азот, %	0,12	0,09 – 0,11	0,12 – 0,16	0,23 – 0,26
P_2O_5 валового, %	0,06 – 0,11	—	—	0,18 – 0,30
P_2O_5 подвижного, мг/100 г	1,0 – 3,0	3,0 – 6,0	5,0 – 15,0	15,0 – 75,0
K_2O подвижного, мг/100 г	6,0 – 8,0	6,0 – 16,0	12,0 – 18,0	12,0 – 28,0
pH (солевая вытяжка)	3,5 – 4,0	4,0 – 5,2	5,0 – 5,8	5,8 – 6,8
Насыщенность, %	30 – 50	35 – 60	55 – 75	76 – 98
Водопроницаемость, мм/мин	0.2 – 0.5	—	0.5-1.1	0.8 – 3.3

10. Рекомендуемые методы массовых анализов почв для зональных агрохимических лабораторий

Зона, почвы	Методы определения		Кислотность
	фосфора	калия	
Нечерноземная	0,2 н. солянокислая вытяжка по Кирсанову № 46-9-67 гр. С-09	0,2 н. солянокислая вытяжка по Кирсанову, МРТУ № 46- 9-67 гр. С-09	pH в 1,0 н. вытяжке KCl, МРТУ № 46-10-67 гр. С-09, обменная и гидролитическая кислотность
Прибалтика	Методы Эгнера-Рима-Доминго и Эгнера-Рима	методы Эгнера-Рима-Доминго и Эгнера-Рима	pH в 1,0 н. вытяжке KCl: МРТУ № 46-10-67 гр. С-09, обменная и гидролитическая кислотность
Черноземная (некарбонатные черноземы)	0,5 н. уксуснокислая вытяжка по Чирикову, МРТУ № 46-5-67 гр. С-09	0,5 н. уксуснокислая вытяжка по Чирикову, МРТУ № 46-5-67 гр. С-09	гидролитическая кислотность
Карбонатные черноземы, каштановые, бурые почвы и зона сероземов	1%-я углеаммонийная вытяжка по Мачигину, МРТУ № 46-8-67 гр. С-09	1 %-ная углеаммонийная вытяжка по Мачигину, МРТУ № 46-8-67, гр. С-09	то же
Влажные субтропики (красноземные и желтоземные почвы)	0,1 г. сернокислая вытяжка по Ониани	0,1 н. сернокислая вытяжка по Ониани	pH в 1 н. вытяжке KCl, МРТУ № 46-10-67 гр. С-09, обменная кислотность
Некарбонатные горные почвы Армении	1%-я лимоннокислая вытяжка по Аррениусу, МРТУ № 46-20-67, гр. С-09	1,0 н. уксусноаммонийная вытяжка по Масловой, МРТУ № 46-6-67 гр. С-09	-

11. Группировка почв по содержанию в них обменного калия, мг K_2O/100 г почвы

Классы	Для дерново-подзолистых и серых лесных почв по Пейве	Для черноземных и других карбонатных почв по Бровкину	Для черноземных и других карбонатных почв по Протасову и Гусейнову	По Эгеру-Риму	По Масловой	Обеспеченность
I	0 – 3	0 – 4	0 – 10 – 20		0 – 5	очень низкая
II	3 – 7	4 – 8	10 – 20 – 30	0 – 5	5 – 10	низкая
III	7 – 10	8 – 14	20 – 30 – 50	5 – 10	10 – 15	средняя
IV	10 – 15	14 – 20	30 – 40 – 70	10 – 15	10 – 20	повышенная
V	15 – 20	20 – 30	40 – 60 – 100	15 – 20	20 – 30	высокая
VI	>20	>30	> 60 – 100	>20	>30	очень высокая

12. Группировка почв по содержанию в них подвижных форм фосфора, мг P_2O_5/100 г почвы

Классы	Для дерново-подзолистых и серых лесных почв по Кирсанову	Для черноземных каштановых и бурых карбонатных почв по Мачигину	Для черноземных и других некарбонатных почв по Труогу	Для красноземов по Гинзбург и Аррениусу	По Чирикову	По Эгеру-Риму	Обеспеченность
I	<3	<1,0	<3	<8	<2	<2	очень низкая
II	3 – 8	1,0 – 1,5	3 – 7	8 – 15	2 – 5	2 – 7	низкая
III	8 – 15	1,5 – 3,0	7 – 12	15 – 30	5 – 10	7 – 15	средняя
IV	15 – 20	3,0 – 4,5	12 – 18	30 – 45	10 – 15	15 – 23	повышенная
V	20 – 30	4,5 – 6,0	18 – 25	45 – 60	15 – 20	24 – 35	высокая
VI	>30	>6,0	>25	>60	>20	>35	очень высокая

13. Группировка почв по содержанию в них доступных форм азота, мг N/100 г почвы

Классы	Легкогидролизуемый азот по Тюрину-Кононовой			Обеспеченность
	pH 5	pH 5 – 6	pH 6	
I	< 4	< 3	< 3	очень низкая
II	4 – 5	3 – 4	3 – 4	низкая
III	5 – 7	4 – 6	4 – 5	средняя
IV	7 – 10	6 – 8	5 – 7	повышенная
V	10 – 14	8 – 12	7 – 10	высокая
VI	> 14	> 12	> 10	очень высокая

14. Содержание микроэлементов в основных сельскохозяйственных культурах, мг/кг сухого вещества

Микроэлемент	Зерновые	Зернобобовые	Прядильные и масличные	Корнеклубнеплоды	Овощные	Травы
Бор	6 – 9	9 – 20	8 – 26	14 – 35	13 – 36	10 – 23
Марганец	22 – 110	12 – 65	23 – 165	7 – 240	10 – 182	25 – 117
Медь	3 – 10	8 – 16	15 – 30	2 – 18		5 – 25
Молибден	0,2 – 1,0	1 – 5	-			1,7 – 4,7
Цинк	15 – 20	19,5 – 48	18 – 20	1,7 – 11	1 – 60	21 – 45
Кобальт	0,08	0,2 – 0,3	-	0,1	-	0,26 – 0,48

15. Группировка почв по содержанию подвижных форм микроэлементов, мг/кг почвы (Ринькис, 1963)

Степень обеспеченности	B (H_2O)	Mo (оксалатная вытяжка, pH 3)	Cu (1 н. HCl)	Mn (0,1 н. H_2SO_4)	Zn (1 н. KCl)	Co (1 н. HNO_3)
Минеральные почвы						
Низкая	< 0.2	< 0,1	< 2,0	< 20	< 0,1	< 1.0
Средняя	0.2 – 0,6	0,1 – 0,3	2,0 – 3,5	20 – 50	1.0 – 3.0	1.0 – 3,0
Высокая	> 0,6	> 0,3	> 3.5	> 60	> 3,0	> 3.0
Торфяно-болотные почвы						
Низкая	< 0,4	< 0,2	< 5.0	< 40	< 2.0	< 2.0
Средняя	0.4 – 1.0	0.2 – 0.5	5.0 – 7.0	40 – 100	2.0 – 6.0	2.0 – 6.0
Высокая	> 0,1	> 0.6	> 7.0	> 100	> 6,0	> 6.0

16. Предельно допустимые количества (ПДК) химических веществ в почвах, мг/кг (Утверждены в России Минздравом № 1968-79 от 21.02.79; № 25546-82 от 13.05.82; №; 3210-85 от 01.02.85)

Валовое содержание					
Мышьяк	2.0	Ртуть	2,1	Ванадий	150
Свинец фон	+ 20	Хром	0.05	Ванадий	+ 100
Марганец	1500	Марганец	+ 1000	Сурьма	4,5
Подвижные формы, извлекаемые ацетатно-аммонийным буфером с pH 4.8					
Медь	3.0	Никель	4.0	Цинк	23.0

17. Ориентировочные допустимые концентрации (ОДК), валовое содержание, мг/кг (Дополнение № 1 к перечню ПДК и ОДК № 6229-91. Утверждены Госсанэпиднадзором РФ № 13 от 27.12.94.)

Группа почв	Ni	Cu	Zn	As	Cd	Pb
Песчаные и супесчаные	20	33	55	2	0,5	32
Кислые суглинистые и глинистые $pH_{KCl} \leq 5,5$	40	66	110	5	1,0	65
Близкие к нейтральным суглинистые и глинистые $pH_{KCl} \geq 5,5$	80	132	220	10	2,0	130

18. ПДК тяжелых металлов в почвах сельскохозяйственных земель некоторых стран, мг/кг

Элемент	Великобритания		Франция	ФРГ	Директива ЕЭС
	для карбон.	для некарбон.			
Мышьяк	10	10	-	-	-
Кадмий	3,5	3,5	2	3	3
Хром	600	600	150	100	100
Медь	140	280	100	100	100
Ртуть	1	1	1	2	-
Молибден	4	4	–	–	-
Никель	35	75	50	50	50
Свинец	550	550	100	100	100
Селен	3	3	10	-	-
Цинк	280	500	300	300	300

19. Максимально допустимые концентрации химических элементов в поливных водах (рекомендации ФАО)

Элемент	Поливные воды, мг/л	Элемент	Поливные воды, мг/л
Алюминий	5.0	Молибден	0,01
Бериллий	0,1	Мышьяк	0,1
Железо	0,5	Никель	0,2
Кадмий	0,05	Селен	0,02
Кобальт	0,1	Свинец	5,0
Литий	2.5	Фтор	1,0
Марганец	0.2	Хром	0,1
Медь	0.2	Цинк	2,0

20. Предельно допустимые концентрации тяжелых металлов в некоторых видах продовольственного сырья и пищевых продуктов для России в мг/кг сырой массы приведены ниже (Медико-биологические требования № 5061-89)

Продукты	Pb	Cd	As	Hg	Cu	Zn
Зерновые	0,5	0,1	0,2	0,03	10,0	50,0
Бобовые	0,5	0,1	0,3	0,02	10,0	50,0
Овощи и картофель	0,5	0,03	0,2	0,02	5,0	10,0
Фрукты	0,4	0,03	0,2	0,02	5,0	10,0

21. Обеспеченность некарбонатных и малокарбонатных почв подвижными формами микроэлементов, определяемых по методу Пейве – Ринькиса

Элемент	Экстрагирующий раствор	Группы почв по содержанию микроэлементов мг/кг		
		низкое	среднее	высокое
Марганец	0,1 н. H_2SO_4	< 30	31 – 70	>71
Цинк	1 н. KCl	< 0,7	0,8 – 1,5	> 1,6
Медь	1 н. HCl	< 1,5	1,6 – 3,3	> 3,4
Кобальт	1 н. HNO	< 1,0	1,1 – 2,2	> 2,3
Молибден	оксалатный буфер с pH 3,3	< 0,1	0,11 – 0,22	>0,23
Бор	H_2O	< 0,33	0,34 – 0,70	> 0,71

22. Обеспеченность карбонатных почв подвижными формами микроэлементов, определяемых в вытяжке ацетатно-аммонийного буферного раствора с pH 4,8

Элемент	Группы почв по содержанию микроэлементов, мг/кг		
	низкое	среднее	высокое
Марганец	< 10	11 – 20	> 21
Цинк	< 2,0	2,1 – 5,0	> 5,1
Медь	< 0,20	0,21 – 0,50	> 0,51
Кобальт	< 0,15	0,16 – 0,30	> 0,31

23. ПДК нитрат-ионов и нитрит-ионов в кормах для животных (мг на 1 кг сырой продукции)

Вид корма	Нитрат-ион	Нитрит-ион
Картофель	300	10
Свекла	800	10
Силос, сенаж	200	10
Комбикорма для свиней и птицы	200	5
Комбикорма для мелкого и крупного рогатого скота	500	10
Зелёные корма	200	10
Сено, солома	500	10
Зернофураж	300	10

24. Допустимое содержание нитратов в растениях (ПДК) (содержание NO_3^- мг на 1 кг сырой продукции)

Продукт	Допустимое содержание мг NO_3^-/кг	
	открытый грунт	защищённый грунт
Картофель	250	
Капуста белокочанная, ранняя (до 1 сентября)	900	
Капуста белокочанная поздняя	500	
Морковь ранняя (до 1 сентября)	400	
Морковь поздняя	250	
Томаты	150	300
Огурцы	150	400
Тыква	200	
Листовые овощи (салат, укроп, петрушка, кинза, шпинат и др.)	2000	3000
Свекла столовая	1400	
Лук репчатый	80	800
Лук перо	600	
Дыни	90	
Арбузы	60	
Перец сладкий	200	400
Кабачки	400	400
Виноград столовых сортов	60	
Яблоки	60	
Груши	60	

25. Таблицы Бертрана для расчета растворимых углеводов (редуцирующий сахар в милиграммах)

Меди	Глюкозы	Меди	Глюкозы	Меди	Глюкозы	Меди	Глюкозы
1,1	0,50	5,0	2,27	8,9	4,20	12,8	6,15
1,2	0,54	5,1	2,31	9,0	4,25	12,9	6,20
1,3	0,59	5,2	2,36	9,1	4,30	13,0	6,25
1,4	0,63	5,3	2,40	9,2	4,35	13,1	6,30
1,5	0,68	5,4	2,45	9,3	4,40	13,2	6,35
1,6	0,72	5,5	2,50	9,4	4,45	13,3	6,40
1,7	0,77	5,6	2,55	9,5	4,50	13,4	6,45
1,8	0,81	5,7	2,60	9,6	4,55	13,5	6,50
1,9	0,83	5,8	2,65	9,7	4,60	13,6	6,55
2,0	0,90	5,9	2,70	9,8	4,65	13,7	6,60
2,1	0,95	6,0	2,75	9,9	4,70	13,8	6,65
2,2	1,00	6,1	2,80	10,0	4,75	13,9	6,70
2,3	1,04	6,2	2,85	10,1	4,80	14,0	6,75
2,4	1,09	6,3	2,90	10,2	4,85	14,1	6,80
2,5	1,13	6,4	2,95	10,3	4,90	14,2	6,85
2,6	1,18	6,5	3,00	10,4	4,95	14,3	6,90
2,7	1,22	6,6	3,05	10,5	5,00	14,4	6,95
2,8	1,27	6,7	3,10	10,6	5,05	14,5	7,00
2,9	1,31	6,8	3,15	10,7	5,10	14,6	7,05
3,0	1,36	6,9	3,20	10,8	5,15	14,7	7,10
3,1	1,40	7,0	3,25	10,9	5,20	14,8	7,15
3,2	1,45	7,1	3,30	11,0	5,,25	14,9	7,20
3,3	1,50	7,2	3,35	11,1	5,30	15,0	7,25
3,4	1,54	7,3	3,40	11,2	5,35	15,1	7,30
3,5	1,59	7,4	3,45	11,3	5,40	15,2	7,35
3,6	1,63	7,5	3,50	11,4	5,45	15,3	7,40
3,7	1,68	7,6	3,55	11,5	5,50	15,4	7,45
3,8	1,72	7,7	3,60	11,6	5,55	15,5	7,50
3,9	1,77	7,8	3,65	11,7	5,60	15,6	7,55
4,0	1,81	7,9	3,70	11,8	5,65	15,7	7,60
4,1	1,83	8,0	3,75	11,9	5,70	15,8	7,65
4,2	1,90	8,1	3,80	12,0	5,75	15,9	7,70
4,3	1,95	8,2	3,85	12,1	5,80	16,0	7,75
4,4	2,00	8,3	3,90	12,2	5,85	16,1	7,80
4,5	2,04	8,4	3,95	12,3	5,90	16,2	7,85
4,6	2,09	8,5	4,00	12,4	5,95	16,3	7,90
4,7	2,13	8,6	4,05	12,5	6,00	16,4	7,95
4,8	2,18	8,7	4,10	12,6	6,05	16,5	8,00
4,9	2,22	8,8	4,15	12,7	6,10	16,6	8,05

Продолжение таблицы 25.

Меди	Глюкозы	Меди	Глюкозы	Меди	Глюкозы	Меди	Глюкозы
16,7	8,10	20,8	10,15	24,9	12,30	29,0	14,36
16,8	8,15	20,9	10,20	25,0	12,35	29,1	14,42
16,9	8,20	21,0	10,25	25,1	12,40	29,2	14,47
17,0	8,25	21,1	10,30	25,2	12,45	29,3	14,52
17,1	8,30	21,2	10,35	25,3	12,50	29,4	14,57
17,2	8,35	21,3	10,40	25,4	12,55	29,5	14,63
17,3	8,40	21,4	10,45	25,5	12,60	29,6	14,68
17,4	8,45	21,5	10,50	25,6	12,65	29,7	14,73
17,5	8,50	21,6	10,55	25,7	12,70	29,8	14,78
17,6	8,55	21,7	10,60	25,8	12,75	29,9	14,84
17,7	8,60	21,8	10,65	25,9	12,80	30,0	14,89
17,8	8,65	21,9	10,70	26,0	12,85	30,1	14,94
17,9	8,70	22,0	10,75	26,1	12,90	30,2	15,00
18,0	8,75	22,1	10,80	26,2	12,95	30,3	15,05
18,1	8,80	22,2	10,85	26,3	13,00	30,4	15,10
18,2	8,85	22,3	10,90	26,4	13,05	30,5	15,15
18,3	8,90	22,4	10,95	26,5	13,10	30,6	15,20
18,4	8,95	22,5	11,00	26,6	13,15	30,7	15,25
18,5	9,00	22,6	11,05	26,7	13,20	30,8	15,30
18,6	9,05	22,7	11,10	26,8	13,25	30,9	15,35
18,7	9,10	22,8	11,15	26,9	13,30	31,0	15,40
18,8	9,15	22,9	11,20	27,0	13,35	31,1	15,45
18,9	9,20	23,0	11,25	27,1	13,40	31,2	15,50
19,0	9,25	23,1	11,30	27,2	13,45	31,3	15,55
19,1	9,30	23,2	11,35	27,3	13,50	31,4	15,60
19,2	9,35	23,3	11,40	27,4	13,55	31,5	15,65
19,3	9,40	23,4	11,45	27,5	13,60	31,6	15,70
19,4	9,45	23,5	11,50	27,6	13,65	31,7	15,75
19,5	9,50	23,6	11,55	27,7	13,70	31,8	15,80
19,6	9,55	23,7	11,68	27,8	13,75	31,9	15,85
19,7	9,60	23,8	11,73	27,9	13,80	32,0	15,90
19,8	9,65	23,9	11,78	28,0	13,85	32,1	15,95
19,9	9,70	24,0	11,84	28,1	13,90	32,2	16,00
20,0	9,75	24,1	11,89	28,2	13,95	32,3	16,05
20,1	9,80	24,2	11,94	28,3	14,00	32,4	16,10
20,2	9,85	24,3	12,00	28,4	14,05	32,5	16,15
20,3	9,90	24,4	12,05	28,5	14,10	32,6	16,20
20,4	9,95	24,5	12,10	28,6	14,15	32,7	16,25
20,5	10,00	24,6	12,15	28,7	14,21	32,8	16,30
20,6	10,05	24,7	12,20	28,8	14,26	32,9	16,35
20,7	10,10	24,8	12,25	28,9	14,31	33,0	16,40

Продолжение таблицы 25.

Меди	Глюкозы	Меди	Глюкозы	Меди	Глюкозы	Меди	Глюкозы
33,1	16,45	34,3	17,05	35,5	17,65	36,7	18,26
33,2	16,50	34,4	17,10	35,6	17,70	36,8	18,31
33,3	16,55	34,5	17,15	35,7	17,75	36,9	18,36
33,4	16,60	34,6	17,20	35,8	17,80	37,0	18,42
33,5	16,65	34,7	17,25	35,9	17,85	37,1	18,47
33,6	16,70	34,8	17,30	36,0	17,90	37,2	18,52
33,7	16,75	34,9	17,35	36,1	17,95	37,3	18,57
33,8	16,80	35,0	17,40	36,2	18,00	37,4	18,63
33,9	16,85	35,1	17,45	36,3	18,05		
34,0	16,90	35,2	17,50	36,4	18,10		
34,1	16,95	35,3	17,55	36,5	18,15		
34,2	17,00	35,4	17,60	36,6	18,21		

26. Количество мальтозы (мг), эквивалентное количеству меди (мг) (для расчетов по Бертрану)

Сахар	Медь	Сахар	Медь	Сахар	Медь	Сахар	Медь
1,0	1,120	3,7	4,144	6,1	6,832	8,5	9,520
1,1	1,232	3,8	4,256	6,2	6,944	8,6	9,632
1,2	1,344	3,9	4,368	6,3	7,056	8,7	9,744
1,3	1,456	4,0	4,480	6,4	7,168	8,8	9,856
1,4	1,568	4,1	4,592	6,5	7,280	8,9	9,968
1,5	1,680	4,2	4,704	6,6	7,392	9,0	10,080
1,9	2,128	4,3	4,816	6,7	7,404	9,1	10,192
2,0	2,240	4,4	4,928	6,8	7,512	9,2	10,304
2,1	2,352	4,5	5,040	6,9	7,634	9,3	10,416
2,2	2,469	4,6	5,152	7,0	7,840	9,4	10,528
2,3	2,576	4,7	5,264	7,1	7,952	9,5	10,640
2,4	2,688	4,8	5,376	7,2	8,064	9,6	10,752
2,5	2,800	4,9	5,488	7,3	8,176	9,7	10,864
2,6	2,912	5,0	5,600	7,4	8,288	9,8	10,978
2,7	3,024	5,1	5,712	7,5	8,400	9,9	11,090
2,8	3,136	5,2	5,824	7,6	8,512	10,0	11,200
2,9	3,248	5,3	5,936	7,7	8,624	11,0	12,320
3,0	3,160	5,4	6,048	7,8	8,736	12,0	13,440
3,1	3,472	5,5	6,616	7,9	8,848	13,0	14,560
3,2	3,584	5,6	6,272	8,0	8,960	14,0	15,680
3,3	3,692	5,7	6,384	8,1	9,072	15,0	16,800
3,4	3,808	5,8	6,496	8,2	9,184		
3,5	3,920	5,9	6,608	8,3	9,296		
3,6	3,996	6,0	6,720	8,4	9,408		

27. Некоторые показатели различных растительных масел

Масло	Удельный вес	Рефракция при 40°С	Кислотное число	Иодное число	Число омыления
Кукурузное нерафинированное	0,918 – 0,927	56 – 62	6	130 – 131	186 – 198
Конопляное техническое	0,922 – 0,932	-	1	< 150	185 – 195
Хлопковое пищевое	0,920 – 0,930	56 – 69	0,3	101 – 116	191 – 198
Кокосовое пищевое	$t_{плавления}$ 23 – 29°С	33 – 36	0,65	8 – 12	254 – 266
Льняное техническое	0,928 – 0,936	-	5,0	< 170	184 – 195
Касторовое техническое	0,940 – 0,960	-	5,0	82 – 88	176 – 186

28. Вынос элементов питания с 1 ц товарной продукции (с учетом побочной), кг; коэффициенты использования культурами питательных элементов из почвы и удобрений, %

Культура	Вынос элементов, кг			Коэффициенты использования, %				
				из почвы		из удобрений		
	Азот	Фосфор	Калий	Фосфор	Калий	Азот	Фосфор	Калий
Капуста белокачанная ранняя	0,34	0,12	0,35	7	40	50	11	55
поздняя	0,35	0,08	0,36	5	35	45	18	60
Капуста цветная	1,17	0,32	1,13					
Морковь	0,24	0,08	0,37	6	45	45	15	50
Свекла столовая	0,27	0,15	0,43	5	40	60	20	80
Лук репка	0,28	0,12	0,37	4	15	30	5	35
Томат	0,27	0,09	0,49	4	20	35	8	55
Огурец	0,30	0,15	0,45	8	20	60	25	55
Картофель	0,50	0,15	0.60	5	40	50	20	60

29. ОСНОВНЫЕ И ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ ЕДИНИЦЫ СИ

Величина	Единица		
	Наименование	Обозначение	
		международное	русское
ОСНОВНЫЕ ЕДИНИЦЫ СИ			
Длина	метр	m	м
Масса	килограмм	kg	кг
Время	секунда	s	с
Сила электрического тока	ампер	A	А
Термодинамическая температура	кельвин	K	К
Количество вещества	моль	mol	моль
Сила света	кандела	cd	кд
ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ ЕДИНИЦЫ СИ			
Плоский угол	радиан	rad	рад
Телесные угол	стерадиан	sr	ср

29а. ПРОИЗВОДНЫЕ ЕДИНИЦЫ СИ, ИМЕЮЩИЕ СПЕЦИАЛЬНЫЕ НАИМЕНОВАНИЯ

Величина	Единица			Выражение через основные и дополнительные единицы СИ
	Наименование	Обозначение		
		международное	русское	
Частота	герц	Hz	Гц	$с^{-1}$
Сила	ньютон	N	Н	$м \cdot кг \cdot с^{-2}$
Давление	паскаль	Pa	Па	$м^{-1} \cdot кг \cdot с^{-2}$
Энергия	джоуль	J	Дж	$м^{2} \cdot кг \cdot с^{-2}$
Мощность	ватт	W	Вт	$м^{2} \cdot кг \cdot с^{-3}$
Количество электричества	кулон	C	Кл	$с \cdot А$
Электрическое напряжение	вольт	V	В	$м^{2} \cdot кг \cdot с^{-3} \cdot А^{-1}$
Электрическая емкость	фарад	F	Ф	$м^{-2} \cdot кг\text{-}1 \cdot с^{4} \cdot А^{2}$
Электрическое сопротивление	ом	Ω	Ом	$м^{-2} \cdot кг \cdot с^{-3} \cdot А^{-2}$
Электрическая проводимость	сименс	S	См	$м^{-2} \cdot кг^{-1} \cdot с^{-3} \cdot А^{2}$
Поток магнитной индукции	вебер	Wb	Вб	$м^{2} \cdot кг \cdot с^{-2} \cdot А^{-1}$
Магнитная индукция	тесла	T	Тл	$кг \cdot с^{-2} \cdot А^{-1}$
Индуктивность	генри	H	Гн	$м^{-2} \cdot кг \cdot с^{-2} \cdot А^{-2}$
Световой поток	люмен	lm	лм	$кд \cdot ср$
Освещенность	люкс	lx	лк	$м^{-2} \cdot кд \cdot ср$
Активность радионуклида	беккерель	Bq	Бк	$м^{2} \cdot с^{-2}$
Поглощенная доза ионизирующего излучения	грэй	Gy	Гр	$м^{-2} \cdot с^{-2}$
Эквивалентная доза излучения	зиверт	Sv	Зв	$м^{-2} \cdot с^{-2}$

30. Метрологические характеристики некоторых методов анализа почв, согласно нормативным документам

Норма-тивный документ	Содержание	Показатель	Диапазон	Cv, %	$D_{вл}$, %	$D_{мл}$, %
ГОСТ 26204-84	Определение подвижных форм фосфора и калия по методу Чирикова в модификации ЦИНАО	Содержание подвижного фосфора, мг/кг почвы	< 50	10,00	20,00	20,00
			> 50	7,50	15,00	20,00
		Содержание подвижного калия, мг/кг почвы	< 100	7,50	15,00	20,00
			> 100	5,00	10,00	15,00
ГОСТ 26205-84	Определение подвижных форм фосфора и калия по методу Мачигина в модификации ЦИНАО	Содержание подвижного фосфора, мг/кг почвы	< 15	17,50	35,00	40,00
			15 – 30	12,50	25,00	30,00
			> 30	10,00	20,00	20,00
		Содержание подвижного калия, мг/кг почвы	< 200	5,00	10,00	20,00
			200 – 400	5,00	10,00	15,00
ГОСТ 26206-84	Определение подвижных форм фосфора и калия по методу Ониани в модификации ЦИНАО	Содержание подвижного фосфора, мг/кг почвы	< 50	10,00	20,00	20,00
			> 50	7,50	15,00	15,00
		Содержание подвижного калия, мг/кг почвы	< 100	7,50	15,00	20,00
			> 100	5,00	10,00	10,00
ГОСТ 26207-84	Определение подвижных форм фосфора и калия по методу Кирсанова в модификации ЦИНАО	Содержание подвижного фосфора, мг/кг почвы (минеральные горизонты)	< 30	10,00	20,00	35,00
			30 – 60	7,50	15,00	25,00
			> 60	7,50	15,00	20,00
		Содержание подвижного фосфора, мг/кг почвы (органические горизонты)	< 300	7,50	20,00	35,00
			300 – 600	7,50	15,00	25,00
			> 600	7,50	15,00	20,00
		Содержание подвижного калия, мг/кг почвы (минеральные горизонты)	< 80	7,50	15,00	20,00
			80 – 120	7,50	15,00	15,00
			> 120	5,00	10,00	15,00
		Содержание подвижного калия, мг/кг почвы (минеральные горизонты)	< 800	5,00	15,00	20,00
			800 – 1200	5,00	15,00	15,00
			> 1200	5.00	10.00	15.00

Продолжение таблицы 30

Норма-тивный документ	Содержание	Показатель	Диапазон	Cv, %	$D_{вл}$, %	$D_{мл}$, %
ГОСТ 26208-84	Определение подвижных форм фосфора и калия по методу Эгнера-Рима-Доминго (АЛ-метод)	Содержание подвижного фосфора, мг/кг почвы	< 30	10,00	20,00	35,00
			> 30	7,50	15,00	25,00
		Содержание подвижного калия, мг/кг почвы	< 80	7,50	15,00	20,00
			80 – 120	7,50	15,00	15,00
			120 – 170	5,00	10,00	15,00
			> 170	5,00	10,00	15,00
ГОСТ 26209-84	Определение подвижных форм фосфора и калия по методу Эгнера-Рима (ДЛ-метод)	Содержание подвижного фосфора, мг/кг почвы	< 50	15,00	30,00	40,00
			50 – 100	10,00	20,00	25,00
			> 100	7,50	15,00	20,00
		Содержание подвижного калия, мг/кг почвы	< 50	10,00	20,00	30,00
			50 – 100	7,50	15,00	25,00
			> 100	5,00	10,00	20,00
ГОСТ 26210-84	Определение обменного калия по методу Масловой	Содержание обменного калия, мг/кг почвы	< 200	5,00	10,00	20,00
			> 200	5,00	10,00	15,00
ГОСТ 26212-84	Определение гидролитической кислотности по методу Каппена в модификации ЦИНАО	Гидролитическая кислотность, ммоль-экв/100 г почвы	< 3	6	12	25,00
			3 – 100	6,00	12,00	20,00
			> 100	7,50	12,00	20,00
ГОСТ 26213-84	Определение гумуса по методу Тюрина в модификации ЦИНАО	Содержание гумуса, %	< 2	10	20,00	30,00
			2 – 5	10,00	20,00	20,00
			> 5	5,00	10,00	12,00

Cv, % – суммарная погрешность метода, выраженная коэффициентом вариации;
Dвл (внутрилабораторная), % и Dмл (межлабораторная), % – допустимые отклонения от стандартного образца для повторных анализов в одной и разных лабораториях, соответственно (при доверительной вероятности $P = 0,95$)

31. Значения коэффициента Стьюдента при различном количестве степеней свободы ν и доверительной вероятности a

	Количество степеней свободы ν								
a	1	2	3	4	5	10	15	20	25
0,20	3,08	1,89	1,64	1,53	1,48	1,37	1,34	1,32	1,32
0,10	6,31	2,92	2,35	2,13	2,02	1,81	1,75	1,72	1,71
0,05	12,71	4,30	3,18	2,78	2,57	2,23	2,13	2,09	2,06

32. Критическое значение F-статистики для уровня значимости a = 0,05 в зависимости от количества степеней свободы v_1 (числителя) и v_2 (знаменателя)

	v_1								
v_2	1	2	3	4	5	10	15	20	25
1	161	200	216	225	230	242	246	248	249
2	18,5	19,0	19,2	19,2	19,3	19,4	19,4	19,4	19,4
3	10,1	9,6	9,3	9,1	9,0	8,8	8,7	8,7	8,6
4	7,7	6,9	6,6	6,4	6,3	6,0	5,9	5,8	5,8
5	6,6	5,8	5,4	5,2	5,1	4,7	4,6	4,6	4,5
10	5,0	4,1	3,7	3,5	3,3	2,9	2,9	2,8	2,7
15	4,5	3,7	3,3	3,1	2,9	2,6	2,4	2,3	2,3
20	4,3	3,5	3,1	2,9	2,7	2,3	2,2	2,1	2,1
25	4,2	3,4	3,0	2,8	2,6	2,2	2,1	2,0	1,9

Сокращения, принятые для обозначения удобрений

$N_{аа}$ – аммоний азотнокислый
$N_{а}$ – аммоний сернокислый
$N_{м}$ – мочевина
$N_{с}$ – селитра натриевая
$N_{ск}$ – селитра калийная
$N_{скц}$ – селитра кальциевая
$N_{ц}$ – цианамид кальция
$N_{ва}$ – водный аммиак
$N_{ба}$ – безводный аммиак
$P_{д}$ – суперфосфат простой
$P_{дг}$ – суперфосфат гранулированный
$P_{сд}$ – суперфосфат двойной
$P_{д}$ – преципитат
$P_{оф}$ –обесфторенный фосфат
$P_{ф}$ – фосфоритная мука
$P_{фш}$ – фосфошлак
$K_{х}$ – калий хлористый
$K_{с}$ –калий сернокислый
$K_{кс}$ – калийная соль
$P_{ам}$ – аммофос
$P_{дам}$ – диаммофос
НФ – нитрофос
ФМ – фосфат мочевины;
НФК – нитрофоска
НАФК – нитроаммофоска
ПФА – полифосфат аммония
МФА – метафосфат аммония
МФК – метафосфат калия
Н – навоз
ТНК – торфонавозный компост
ТМАУ – торфоминеральные аммиачные удобрения

Аптечка первой помощи в химической лаборатории

1. Бинт
2. Вата
3. Белый стрептоцид
4. 5%-й линимент синтомицина
5. 2%-й раствор буры или борной кислоты
6. 5%-й раствор двууглекислого натрия
7. 10%-й раствор углекислого аммония
8. 10%-й раствор аммиака
9. Суспензия магнезии (10 г MgO на 500 мл воды)
10. 5%-й раствор уксусной кислоты
11. 1%-й раствор карболовой кислоты
12. Валериановые капли.

Первая помощь при несчастных случаях в химических лабораториях

Возможные несчастные случаи	Первая помощь
Порезы стеклом	удалить осколки стекла, вытереть рану чистой марлей или ватой, присыпать порошком белого стрептоцида и завязать
Ранения с сильным кровотечением	остановить кровь перевязкой выше места ранения (толсто-стенной каучуковой трубкой или резиновым ремнем), забинтовать пострадавшего и отправить в медицинский пункт
Ожог раскаленными предметами	смазать обожженное место насыщенным раствором $KMnO_4$ или 5%-м линиментом синтомицина
Ожог водяным паром или кипящей водой	помощь та же, что и при ожоге раскаленными предметами
Ожоги концентрированными кислотами	тщательно смыть кислоту водой, после чего смазать обожженное место слабым раствором (5 - 10%) двууглекислой соды $NaHCO_3$ или присыпать порошком этой соды (можно применить порошок $CaCO_3$)
Ожог плавиковой (фтористоводородной) кислотой	погрузить обожженное место на 10 - 15 мин в 3%-й раствор NH_4OH или 10%-й раствор или же промыть обильным количеством воды и наложить компресс с пастой, приготовленной из суспензии МО
Ожог глаз концентрированными кислотами	тщательно промыть глаза 2%-м раствором $NaHCO_3$ или буры $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$
Ожог глаз крепкими щелочами	после тщательного промывания г лаз водой промыть их слабой кислотой (2%-м раствором борной или уксусной кислоты)
Ожог жидким бромом	промыть пораженное место водой и слабым раствором аммиака; поставить компресс из 1%-го раствора карболовой кислоты
Отравление лабораторными газами (светильным газом, окислами азота, бромом, аммиаком и др.)	немедленно вывести отравленного на чистый воздух; если нужно сделать искусственное дыхание и дать кислород; при отравлении бромом и хлором, а также йодом, осторожно вдыхать пары аммиака из 10%-го раствора NH_4OH; хорошо проветрить помещение
Отравление кислотами (HCl, H_2SO_4, HNO_3, CH_3COOH)	принимать внутрь суспензию магнезии, молоко, муку с водой
Отравление щелочами ($NaOH$, KOH, Na_2CO_3, K_2CO_3)	принимать внутрь 5%-ю уксусную кислоту, лимонную кислоту или сок лимона

ЛИТЕРАТУРА

Агрохимические методы исследования почв / Под ред. А. В. Соколова. М 1975.

Агрохимические методы исследования почв. М.: Наука, 1975. 98 с.

Аринушкина Е.В. Руководство по химическому анализу почв. М..

Бабко А.К., Пилипенко А.Т. Фотометрический анализ//Методы определения неметаллов. М., 1974.

Бок Р. Методы разложения в аналитической химии. М.:Химия, 1984. 426 с.

Большой практикум по физиологии растений. // Под ред. Б. А. Рубина. М., 1978.

Воробьева Л.А. Химический анализ почв. М.: Изд-во МГУ, 1998

Галстян А.Ш. Ферментативная активность почв Армении. Вып. 8. Ереван, 1974.

Гриндель Н.М. Фотометрические методы в почвенном анализе. М.: Изд-во. МГУ, 1982. 247 с.

Дмитриев Е.А. Математическая статистика в почвоведении: Учебник. М.: Изд-во МГУ, 1995. 320 с.

Дмитриев М.Т., Казнина Н.И., Пинигина И.А. Санитарно-химический анализ загрязняющих веществ в окружающей среде. М.: Химия, 1989. 366 с.

Дорохова Е.Н., Прохорова Г.В. Аналитическая химия. Физико-химические методы анализа. М.: Высшая школа, 1991.

Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). 5-е изд., доп. и перераб. М.: Агропромиздат, 1985. 351 с.

Ермаков В.В., Ковальский В.В. Биологическое значение селена. М.: Наука, 1974/ 290 с.

Зырин Н.Г., Мотузова Г.В. химическое определение мышьяка в почвах. // Агрохимия. 1973. № 2.С. 124 –145.

Леонтьев В.П. Новейшая энциклопедия персонального компьютера. М.: ОЛМА-пресс, 1999. 640 с.

Магницкий К. П., Шугаров Ю. А., Малков В. К. Новые методы анализа растений и почв. М., 1959.

Методические указания по агрохимическому обследованию почв сельскохозяйственных угодий. М., 1982.

Методы определения микроэлементов в почвах, растениях и водах / Под ред. И.Г. Важенина. М.: Колос, 1974. 286 с.

Методы почвенной микробиологии и биохимии / Под ред. Д. С. Звягинцева. М., 1980.

Назаренко Н.И., Кислова И.В. Флуориметрическое определение селена в морских осадках.../ Химический анализ морских осадков. М.: Наука, 1993. С. 20 – 25.

Обеспечение качества результатов химического анализа / П. Буйташ. Н. Кузьмин, Л. Лейстнер. М.: Наука, 1993. 167 с.

Орлов Д.С. Химия почв. М., 1985.

Орлов Д.С., Гришина Л.А. Практикум по химии гумуса. М., 1981.

Орлов Д.С., Мотузова Г.В., Малинина М.С., Воробьева Л.А. Методические указания по обработке и интерпретации результатов химического анализа почв. М.: Изд-во МГУ. 1986. 111 с.

Основы аналитической химии. Кн. 1. Общие вопросы. Методы разделения: Учеб. для вузов. / Ю.А. Золотов, Е.Н. Дорохова, В.И. Фадеева и др.; Под ред. Ю.А. Золотова. М.: Высшая школа, 1996. 383 с.

Перегудов В.Н. Планирование многофакторных полевых опытов с удобрениями и математическая обработка их результатов. М.: Колос. 1978. 183 с.

Практикум по агрохимии / Под ред. Б.А. Ягодина. М., 1987.

Практикум по агрохимии / Под ред. В.Г. Минеева. М.: Изд-во МГУ, 1989. 304 с.

Практикум по почвоведению / Под ред. И. П. Гречина. М., 1964.

Риньякис Г.Я. Методы ускоренного колориметрического определения микроэлементов в биологических объектах. Рига, 1963.

Русин Г.Г. Физико-химические методы анализа в агрохимии. М.: Агропромиздат, 1990. 302 с.

Спектральный анализ чистых веществ. С.-Пб.: Химия, 1994. 333 с.

Тюрин Ю.Н., Макаров А.А. Анализ данных на компьютере / Под ред. В.А. Фигурнова. М.: ИНФРА-М; Финансы и статистика, 1995. 384 с.

Физико-химические методы исследования почв./Под ред. Н.Г. Зырина, Д.С. Орлова. М.: Изд-во МГУ, 1980. 381 с.

Хазиев Ф.Х. Ферментативная активность почв. М., 1976.

Хазиев Ф.Х. Методы почвенной энзимологии. М.: Наука, 1990.

Шконде Э.И. О применимости метода Корнфилда для определения потребности почв в азотных удобрениях // Химия в сельском хозяйстве.1971. № 12. С. 50 – 60.

Энергодисперсионный рентгенофлуоресцентный метод аналиа растений. Методические рекомендации. ВАСХНИЛ, Почвенный институт им. В.В. Докучаева. М.: Наука, 1983. 54 с.

Юдин Ф.А. Методика агрохимических исследований.2-е изд., перераб. и доп. М.: Колос. 1971. 272 с.

Юдин Ф.А. Методика агрохимических исследований./2-е изд., перераб. и доп. М.: Колос. 1980. 368 с.

Ягодин Б.А., Дерюгин И.П., Жуков Ю.П. и др. Практикум по агрохимии. Под ред. Б.А. Ягодина. М.: Агропромиздат, 1987. 511 с.

Cornfield A.H. //"Nature". 1960. № 21, 187 (4733).

СОДЕРЖАНИЕ

От редактора 3

Раздел I. ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

СПЕКТРОСКОПИЧЕСКИЕ (ОПТИЧЕСКИЕ) МЕТОДЫ АНАЛИЗА 5
Спектрофотометрия 6
Атомно-абсорбционная спектрофотометрия 16
Спектроскопия в ближней ИК-области 24
ПОЛЯРИМЕТРИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА 28
ИОНОМЕТРИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА 31
РЕНТГЕНОФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА 37
АТОМНО-ЭМИССИОННЫЙ МЕТОД АНАЛИЗА 40
НЕЙТРОННО-АКТИВАЦИОННЫЙ МЕТОД АНАЛИЗА РАСТЕНИЙ 46
МЕТОД СУХОГО СЖИГАНИЯ В ВЫСОКОТЕМПЕРАТУРНОЙ ПЕЧИ 53
ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА 54

Раздел II. АНАЛИЗ ПОЧВЫ

Отбор образцов почвы 59
Подготовка почвы к агрохимическому анализу 64
Определение влажности почвы 65
КИСЛОТНОСТЬ ПОЧВ 66
Определение актуальной кислотности 69
Определение pH солевой вытяжки по методу ЦИНАО (ГОСТ 26483) 69
Определение обменной кислотности по методу ЦИНАО (ГОСТ 26484) 70
Определение pH, обменной кислотности и подвижного алюминия по Соколову 71
Определение обменного (подвижного) алюминия по методу ЦИНАО (ГОСТ 26485) 73
Определение гидролитической кислотности почв по Каппену 75
Определение гидролитической кислотности по методу Каппена в модификации ЦИНАО (ГОСТ 26212) 76
Определение суммы поглощённых оснований по Каппену–Гильковицу 79
Расчёт степени насыщенности почвы основаниями 80
Расчёт дозы извести при известковании почв 81
Определение содержания обменных катионов в почве 83
Определение обменных катионов в ацетатно-аммонийной вытяжке 83
Трилонометрическое определение кальция и магния 83
Вытеснение обменных катионов хлоридом натрия и хлоридом аммония 86
Определение обменного кальция и обменного (подвижного) магния методами ЦИНАО (ГОСТ 26487) 86
Атомно-абсорбционное определение кальция и магния 87
Комплексонометрическое определение кальция и магния 90
Фотометрическое определение магния 92
Фотометрическое определение содержания обменного кальция в почвах с о-крезолфталеинкомплексоном (модификация ЦИНАО) 94
Определение обменного натрия 96
Метод определения обменного натрия в модификации ЦИНАО (ГОСТ 26950) ... 96
Определение степени засоленности и солонцеватости почв 100

Определение степени засоленности почв 101
Методы определения удельной электрической проводимости, pH и плотного остатка водной вытяжки из засоленных почв (ГОСТ 26423) ... 104
Определение щелочности почв 108
Определение щелочности, обусловленной CO_3^{2-}-ионами 109
Определение общей щелочности 109
Определение ионов карбоната и бикарбоната в водной вытяжке из засоленных почв (ГОСТ 26424) 110
Определение хлорид-ионов 112
Определение иона хлорида в водной вытяжке из засоленных почв (ГОСТ 26425): Определения иона хлорида аргентометрическим методом по Мору 114
Определение иона хлорида методом прямой ионометрии 116
Определение иона хлорида методом ионометрического титрования 118
Определение сульфат-ионов: Гравиметрический метод 120
Модификация метода с фотометрическим окончанием 122
Методы определения иона сульфата в водной вытяжке (в модификации ЦИНАО, ГОСТ 26426) 123
Весовое определение иона сульфата 124
Турбидиметрическое определение сульфата 126
Метод определения натрия и калия в водной вытяжке из засоленных почв (ГОСТ 26427) 128
Определение кальция и магния в водной вытяжке из засоленных почв (ГОСТ 26428): комплексонометрическим методом .. 130
атомно-абсорбционным методом 133
Определение степени солонцеватости почв 135
Определение поглощенного натрия в солонцовых почвах по методу Антипова-Каратаева и Мамаевой 136
Оценка степени солонцеватости почв 138
МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ АЗОТА В ПОЧВЕ 140
Методы определения общего азота (ГОСТ 26107): Титриметрический метод .. 140
Фотометрический метод «индофеноловой зелени» (модификация ЦИНАО) 142
Колориметрические методы определения общего азота в почве 145
Метод с реактивом Несслера 145
Феноловый метод 146
Определение легкогидролизуемого азота по Тюрину и Кононовой в модификации Кудеярова 147
Определение щелочногидролизуемого азота в почве по Корнфилду (в модификации ЦИНАО) 148
Определение фиксированного аммония в почве по Могилевкиной 150
Определение обменного аммония и нитратов в почве из одной навески по Кудеярову 152
Минеральный азот почвы и его формы 152
Определение содержания обменного аммония 153
Определение содержания аммонийного азота в модификации ЦИНАО (ГОСТ 26489) 155
Определение содержания нитратов с гидразином в модификации ЦИНАО (ГОСТ 26488) 156
Определение содержания нитратов в почве по Грандваль–Ляжу 158
Определения нитратов в почве с помощью ионоселективного электрода 160
Определение содержания нитритов с *альфа*-нафтиламином и 161

сульфаниловой кислотой .....
МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ФОСФОРА В ПОЧВЕ 163
Определение валового содержания фосфора в почве. Метод К.Е. Гинзбург .. 163
Осаждение железа методом Уорен и Пью 164
Определение общего содержания минеральных и органических фосфатов почвы. Метод прокаливания Сэндерса и Вильямса 165
Определение подвижных форм фосфора в почве 165
Определение подвижных форм фосфора по Кирсанову 167
Определение подвижных соединений фосфора и калия по методу Кирсанова в модификации ЦИНАО (ГОСТ 26207) 168
Определение подвижных форм фосфора по Чирикову 170
Определение подвижных соединений фосфора и калия по методу Чирикова в модификации ЦИНАО (ГОСТ 26204) 171
Определение подвижных форм фосфора по Мачигину 173
Определение подвижных соединений фосфора и калия по методу Мачигина в модификации ЦИНАО (ГОСТ 26205) 174
Метод Эгнера–Рима–Доминго (А–Л -метод) 176
Метод Ониани 177
Определение подвижных соединений фосфора и калия по методу Ониани в модификации ЦИНАО (ГОСТ 26206) 178
Метод Олсена 179
Определение «водорастворимого» фосфора (модификация Шахтшабеля) 180
Метод Брейя и Куртца 181
Определение степени подвижности фосфатов почвы (фактор «интенсивности») по методу Карпинского и Замятиной 181
Определение группового состава фосфатов в почве 182
Метод Чирикова 183
Метод Гинзбург–Лебедевой 185
Метод Чанга–Джексона 185
МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ КАЛИЯ В ПОЧВЕ 189
Легкоподвижные легкоусвояемые формы калия (водорастворимый калий) .. 189
Определение обменных форм калия в почве 190
Метод Масловой 191
Определение обменного калия по Кирсанову 191
Определение обменного калия по Чирикову 191
Метод Мачигина 191
Метод Эгнера–Рима–Доминго 192
Метод Ониани 192
Необменные (экстенсивнообменные и кислоторастворимые) формы калия .. 194
Метод Гедройца 194
Метод Пчелкина 195
ОПРЕДЕЛЕНИЕ СЕРЫ В ПОЧВАХ 196
Определение сульфатной серы весовым методом 198
Объемный трилонометрический метод определения сульфатов 199
Определение сульфат-ионов объемным методом по Айдиняну 201
Фотометрические методы определения серы 201
Определение сульфатной серы с нитхромазо 202
Определение сульфатной серы с хлоранилатом бария 202
Определение сульфатной серы с хроматом бария 203
Турбидиметрический метод определения серы 203

Определение подвижной серы (в модификации ЦИНАО, ГОСТ 26490) 205
ОПРЕДЕЛЕНИЕ КРЕМНИЯ В ПОЧВАХ 207
Весовой метод определения кремнекислоты 207
Фотометрические методы определения кремния 208
Определение кремния в виде кремнемолибденовой гетерополикислоты 209
Определение кремния в почвенных вытяжках в виде кремнемолибденовой сини 209
МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ
И СОСТАВА ГУМУСА В ПОЧВЕ 210
Определение общего содержания гумуса в почве 211
Принципы определение гумуса методом мокрого озоления 212
Определение углерода органических соединений почвы по Тюрину 215
Определение содержания органического вещества по методу Тюрина
в модификации ЦИНАО (ГОСТ 26213) 217
Определение гумуса в почве по Никитину
с колориметрическим окончанием по Орлову-Гриндель 220
Определение гумуса в модификации Антоновой, Скалабян, Сучилкиной 221
Определение группового и фракционного состава гумуса 222
Подготовка образцов почв для определения 224
Определение воскосмол и битумов 224
Выделение фракций гуминовых и фульвокислот 225
Ускорениый пирофосфатный метод определеиия состава гумуса
по Кононо-вой и Бельчиковой 230
ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ В ПОЧВЕ 232
Сплавление с тетраборатом стронция по Дженруа 232
Сплавление почв с метаборатом лития 233
Определение валового содержания тяжелых металлов в почве 234
Определение содержания кислоторастворимых форм соединений
тяжелых металлов в почве 235
Определение содержания подвижных форм биогенных микроэлементов
в почве 236
Определение содержания подвижных форм соединений тяжелых металлов
в почве 240
Определение водорастворимых соединений ТМ в почве 241
Приготовление растворов для анализа 241
Определение содержания цинка в почве атомно-абсорбционным методом ... 243
фотометрическим дитизоновым методом 243
фотометрическим дитизоновым методом в ацетатно-аммонийной
вытяжке с pH 4,8 в модификации ЦИНАО (ГОСТ Р 50686) 245
Определение содержания меди в почве атомно-абсорбционным методом .. 246
экстракционно-атомно-абсорбционное определение в почвенной
вытяжке ацетатно-аммонийного буферного раствора с pH 4,8 246
фотометрическим методом с использованием
диэтилдитиокарбамата свинца 247
Определение содержания подвижных соединений меди
по методу Крупского и Александровой (в ацетатно-аммонийной
вытяжке с pH 4,8) с фотометрическим окончанием в модификации
ЦИНАО (ГОСТ Р 50683) 249
по методу Пейве и Ринькиса (в вытяжке 1 М HCl)
в модификации ЦИНАО (ГОСТ Р 50684) 250

Определение содержания марганца в почве
атомно-абсорбционным методом 251
фотометрическим методом с использованием персульфата аммония 251
фотометрическим методом с использованием формальдоксима
в модификации ЦИНАО (ГОСТ Р 50682) 253
Определение содержания подвижных соединений марганца по методу
Крупского и Александровой (в ацетатно-аммонийной вытяжке с pH 4,8)
в модификации ЦИНАО (ГОСТ Р 50685) 255
Определение содержания кобальта в почве атомно-абсорбционным методом . 256
фотометрическим методом с использованием 2-нитрозо-1-нафтола ... 257
Фотометрическое определение содержания подвижных соединений кобальта
по методу Крупского и Александровой в модификации
ЦИНАО (ГОСТ Р 50683) 259
по методу Пейве и Риникса в модификации
ЦИНАО (ГОСТ Р 50687) 260
Определение содержания молибдена в почвах
фотометрическим методом с использованием цинк-дитиола 262
Определение содержания подвижных соединений молибдена
по методу Григга в модификации ЦИНАО (ГОСТ Р 50689) 265
фотометрическим роданидным методом 266
по методу Григга (роданидный метод) в модификации ЦИНАО
(ГОСТ Р 50689) 268
Определение содержания водорастворимого бора в почвах
фотометрическим методом с использованием хинализарина 269
Определение содержания подвижных соединений бора
по методу Бергера и Труога в модификации ЦИНАО (ГОСТ Р 50688) 271
Определение содержания водорастворимого бора в почвах
фотометрическим методом с использованием кармина 272
фотометрическим методом с использованием азометина Н 274
Определение содержания подвижных соединений бора
по методу Бергера и Труога с азометином Н в модификации
ЦИНАО (ГОСТ Р 50688) 275
Определение содержания свинца в почве атомно-абсорбционным методом . 276
фотометрическим методом с использованием дитизона 276
Определение содержания кадмия в почве атомно-абсорбционным методом 278
фотометрическим методом с использованием дитизона 278
Определение содержания никеля в почве атомно-абсорбционным методом .. 281
фотометрическим методом с использованием диметилглиоксима 281
Определение содержания хрома в почве атомно-абсорбционным методом .. 283
фотометрическим методом с использованием дифенилкарбазида 283
Определение содержания ртути в почве беспламенным
атомно-абсорбционным методом (методом «холодного пара») 285
Определение содержания селена в почве флуориметрическим методом
с использованием 2,3 – диаминонафталина 288
Определение содержания мышьяка в почве фотометрическим методом
с использованием молибдата аммония 291
Определение содержания фторидов в почве ионометрическим методом 294
Определение содержания фтора в почве фотометрическим методом
с использованием ализаринкомплексона и нитрата церия 297

Определение содержания хлоридов в почве методом ионометрического титрования 299

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЧВ

МЕТОДЫ ИЗМЕРЕНИЯ ИНТЕНСИВНОСТИ ДЫХАНИЯ ПОЧВЫ 301
Определение интенсивности выделения углекислоты из почвы (метод Галстяна) 303
Определение содержания выделившегося CO_2 по Карпачевскому 304
Измерение интенсивности дыхания почвы камерным статическим методом 304
МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ АЗОТФИКСАЦИИ В ПОЧВЕ
Ацетиленовый метод 307
Определение потенциальной активности азотфиксации 312
МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ ДЕНИТРИФИКАЦИИ В ПОЧВЕ 313
Определение потенциальной активности денитрификации 313
ОПРЕДЕЛЕНИЕ НИТРИФИЦИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ ПОЧВЫ 314
Определение нитрифицирующей способности почвы по Кравкову ... 316
Определение нитратов в компостах 318
АППЛИКАЦИОННЫЕ МЕТОДЫ 319
Определение интенсивности разложения целлюлозы 319
Определение интенсивности накопления свободных аминокислот в почве 319
Определения суммарной токсичности почвы, растительной продукции биотестированием 320
ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЧВ 323
Подготовка почвы для определения ферментов 325
ОКСИДОРЕДУКТАЗЫ 325
Каталаза (H_2O_2 : H_2O_2-оксидоредуктаза. КФ 1.111.6) 325
Аскорбинатоксидаза (L-аскорбинат:кислород-оксидоредуктаза. КФ 1.10.3.3) 327
Полифенолоксидаза (о-Дифенол:кислород-оксидоредуктаза. КФ 1.10.3.1.) 329
Пероксидаза (Донор: H_2O_2-оксидоредуктаза. КФ 1.11.17) 329
Дегидрогеназы (Субстрат: НАД(Ф)-оксидоредуктаза. КФ 1.1.1) 330
Нитратредуктаза (восстановленный НАД:нитрат-оксидоредуктаза. КФ 1.6.6.1) .. 332
Нитритредуктаза (НАД(Ф) . Н2 : нитрит-оксиредуктаза. КФ 1.6.6.4) 333
Ферриредуктаза (восстановленный НАД(Ф):Fe_2O_3-оксидоредуктаза. КФ 1.6.99) .. 335
Сульфатредуктаза (НАД •H_2: сульфат-оксидоредуктаза. КФ. 1.8.3) 336
MnO_2-редуктаза (восстановленный НАД(Ф):MnO_2 -оксидоредуктаза. КФ 1.6.99) 337
ГИДРОЛАЗЫ 338
ПЕПТИД- И АМИДОГИДРОЛАЗЫ 339
Протеазы (пептид-гидролазы) (Пептидил-пептидгидролазы. КФ 3.4.4..) 339
Уреаза (Карбамид-амидогидролаза. КФ 3.5.1.5) 340
Аспарагиназа (L-Аспарагин-амидогидролаза. КФ 3.5.1.1) 342
ФОСФОГИДРОЛАЗЫ 343
Аденозинтрифосфатаза (АТФ фосфогидролаза. КФ 3.6.1.3) 343
Фосфатазы (фосфогидролазы моноэфиров ортофосфорной кислоты. Щелочная фосфатаза. КФ 3.1.3.1. Кислая фосфатаза. КФ 3.1.3.2) 344
Глюкозидгидролазы 346
β-Фруктофуранозидаза (инвертаза) (β-Фруктофуранозид-фруктогидролаза. КФ 3.2.1.26) 346
α и β-Амилазы (α-Амилаза: α-1,4-глюкан-4-глюканогидролаза. КФ 3.2.1.1; β-Амилаза: β-1,4-глюкан-мальтогидролаза. КФ 3.2.1.2) 348
Целлюлаза (β-1,4,-глюкан-глюкогидролаза. КФ 3.2.1.4) 349

Раздел III. АНАЛИЗ РАСТЕНИЙ

Отбор растительной пробы 351
Фиксация растительного материала 353
Размол растительных образцов и их хранение 354
Определение в растениях «сырой» золы 355
Мокрое озоление растительного материала по Гинзбург и определение азота, фосфора, калия из одной навески 357
МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМ АЗОТА В РАСТИТЕЛЬНОМ МАТЕРИАЛЕ 358
Определение содержания общего азота по Кьельдалю 358
Определение белкового азота 362
Определение белкового азота с трихлоруксусной кислотой (ТХУ). 363
Количественное определение белковых фракций в зерне (по Ермакову–Дурыниной) 365
Ускоренный метод определения белка в вегетативных органах 371
Количественное определение и экстракция растворимых белков из вегетативных органов 372
Определение амидного азота 374
Раздельное определение аспарагина и глютамина (по Кретовичу) 375
Определение амминного азота фотометрическим методом 378
Определение пуриновых оснований и нуклеиновых кислот по азоту (по Корчагину) 379
Раздельное определение аминокислот и полипептидов методом титрования 381
Определение небелкового азота в водной вытяжке 382
Отгон аммиака в аппарате микрокьельдаль 383
Определения содержания нитратов в растительной продукции 386
Ионометрический метод определения нитратов 388
Определение содержания нитратов в тканях, мезге, соке растительной продукции с помощью нитратного ионселективного датчика (модификация ЦИНАО) 394
ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ РАЗЛИЧНЫХ ФРАКЦИЙ ФОСФОРА В РАСТИТЕЛЬНОМ МАТЕРИАЛЕ 402
Извлечение легкогидролизуемого (кислоторастворимого) фосфора 404
Определение кислоторастворимого фосфора 404
Определение фосфора минерального 405
Определение фосфора липидов 405
Определение фосфора нуклеиновых кислот 406
Определение фосфора протеинов 407
Определение общего фосфора в растениях после озоления 409
Определение содержания калия в растениях пламенно-фотометрическим методом 410
ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОБЩЕЙ СЕРЫ 411
Весовой метод определения серы 412
ОПРЕДЕЛЕНИЕ УГЛЕВОДОВ В РАСТЕНИЯХ 413
Определение углеводов по методу Бертрана 415
Определение моносахаридов 417
Определение суммы сахаров растворимых углеводов 418
Определение небелкового азота и углеводов из одной навески 418

Определение растворимых углеводов фотометрически
с пикриновой кислотой (модификация Соловьева) 419
Определение моносахаридов 420
Определение суммы сахаров 421
Поляриметрическое определение сахара в сахарной свекле 422
Определение крахмала в зерне на поляриметре по Эверсу 423
Определение клетчатки весовым методом 426
Определение пектиновых веществ 427
ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИТАМИНОВ В РАСТЕНИЯХ 429
Определение аскорбиновой кислоты (витамина С) по Мурри 431
Определение каротина по Сапожникову 434
ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЖИРОВ В РАСТИТЕЛЬНОМ МАТЕРИАЛЕ 437
Определение общего содержания жира 438
Определение жира по массе обезжиренного остатка по Рушковскому 441
Определение кислотного числа 441
Определение числа омыления 443
Определение йодного числа по Ганусу 444
Определение йодного числа на рефрактометре по Ермакову 446
Определение перекисного числа 447
Определение показателя преломления масла 449
ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЖЕЛЕЗА С СУЛЬФАСАЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТОЙ 450
ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ В РАСТЕНИЯХ ... 452
Подготовка растительных проб для определения тяжелых металлов 452
Валовое содержание микроэлементов 454
Определение содержания цинка в растениях
атомно-абсорбционным методом 454
дитизоновым методом 454
Определение содержания меди в растениях
атомно-абсорбционным методом 455
фотометрическим методом с использованием
диэтилдитиокарбамата свинца 456
Определение содержания марганца в растениях
атомно-абсорбционным методом 457
фотометрическим методом с использованием персульфата аммония 457
фотометрическим методом с использованием формальдоксима 458
Определение содержания кобальта в растениях
атомно-абсорбционным методом 459
фотометрическим методом с использованием 2-нитрозо-1-нафтола 460
Определение содержания молибдена в растениях
фотометрическим методом с использованием цинк-дитиола 461
фотометрическим роданидным методом 462
Определение содержания бора в растениях
фотометрическим методом с использованием хинализарина 463
фотометрическим методом с использованием кармина 464
Определение содержания свинца в растениях
атомно-абсорбционным методом 465
фотометрическим методом с использованием дитизона 465
Определение содержания кадмия в растениях
атомно-абсорбционным методом 466
фотометрическим методом с использованием дитизона 467

Определение содержания никеля в растениях
атомно-абсорбционным методом 467
фотометрическим методом с использованием диметилглиоксима 468
Определение содержания хрома в растениях
атомно-абсорбционным методом 468
фотометрическим методом с использованием дифенилкарбазида 468
Определение содержания ртути в растениях беспламенным
атомно-абсорбционным методом (методом «холодного пара») 470
Определение содержания селена в растениях флуориметрическим методом
с использованием 2,3 – диаминонафталина 470
Определение содержания мышьяка в растениях фотометрическим методом
с использованием молибдата аммония 472
Определение содержания фторидов в растениях ионометрическим
методом 472
Определение фтора в растениях фотометрическим методом
с использованием ализаринкомплексона и нитрата церия 473
Определение содержания хлоридов в растениях
методом ионометрического титрования 474

Раздел VI. АНАЛИЗ УДОБРЕНИЙ

Определение видов и форм *минеральных удобрений*
по качественным реакциям 476
Метод определения гигроскопической и общей воды в удобрениях
высушиванием в сушильном шкафу 479
Метод определения гигроскопической воды высушиванием
при помощи прибора с зеркальной инфракрасной лампой 481
Метод определения общей воды в однокомпонентных калийных
удобрениях высушиванием при помощи прибора с зеркальной
инфракрасной лампой 482
Объемный метод определения общей и гигроскопической воды
реактивом Фишера или йод-ацетатным раствором 483
Динамический хроматографический метод определения
гигроскопической воды 486
Диэлькометрический метод определения гигроскопической воды 488
Методы определения минерального азота в удобрениях
Определение в удобрениях содержания аммиачного азота методом
открытого кипячения 488
Определение в удобрениях аммиачного азота формалиновым методом 489
Метод определения общего азота в аммиачной и амидной формах
с отгонкой аммиака (ГОСТ 20851.1) 491
Метод определения общего азота в аммиачной и амидной формах
без отгонки аммиака (ГОСТ 20851.1) 493
Метод определения нитратного азота (титриметрический) (ГОСТ 20851.1) .. 495
Метод определения суммы аммиачного и нитратного азота
(метод Деварда) (ГОСТ 20851.1) 496
Метод определения амидного азота (спектрофотометрический)
(ГОСТ 20851.1) 498
Формальдегидный метод определения аммиачного азота в слоях аммония
(ГОСТ 20851.1) 499

Метод определения суммы аммиачного и амидного азота (гипохлоритный) (ГОСТ 20851.1) 500
Метод определения аммиачного азота (хлораминовый) (ГОСТ 20851.1) 501
Метод определения общего азота дистилляционным методом с восстановлением нитратного азота хромом и минерализацией органического азота (ГОСТ 20851.1) 503
Методы определения содержания фосфора (ГОСТ 20851.2) 506
Общие требования 506
Извлечение общего фосфора: смесью соляной и азотной кислот 508
раствором соляной (азотной) кислоты 508
Извлечение усвояемого фосфора: реактивом Петермана 508
лимонной кислотой 511
раствором трилона Б 511
раствором соляной кислоты 512
раствором лимоннокислого аммония с pH 7 513
муравьиной кислотой 514
Извлечение водорастворимого фосфора и свободной кислоты водой 515
Определение содержания фосфора: весовым магнезиальным методом 515
дифференциальным фотометрическим методом 517
Метод определения свободной кислотности (объемный) 520
Определение содержания фосфора: весовым хинолиномолибденовым методом 521
титриметрическим хинолиномолибденовым методом 522
методом титрования с применением хлористого магния 524
Методы определения содержания калия (ГОСТ 2085/3.75)
Общие требования 526
Весовой тетрафенилборатный метод определения содержания калия
в однокомпонентных калийных удобрениях 526
в сложных удобрениях 529
Пламенно-фотометрический метод определения калия в сложных и однокомпонентных удобрениях 530
Радиометрический метод определения калия в однокомпонентных и сложных удобрениях 532
Расчетный метод определения калия в хлористом калии 534
Весовой метод определения калия в виде перхлората калия в однокомпонентных удобрениях 539
Объемный тетрафенилборатный метод определения калия 540
ОРГАНИЧЕСКИЕ УДОБРЕНИЯ
Общие требования к методам анализа (ГОСТ 26712) 542
Метод определения влаги и сухого остатка (ГОСТ 26713) 543
Метод определения золы (ГОСТ 26714) 544
Методы определения общего азота (ГОСТ 26715)
Определение общего азота по методу Кьельдаля 545
Фотометрический метод определения общего азота в модификации ЦИНАО 549
Методы определения аммонийного азота (ГОСТ 26716)
Определение аммонийного азота по методу Кьельдаля 551
Фотометрический метод определения аммонийного азота в модификации ЦИНАО 553

Определение содержания аммонийного азота в навозе (по Ромашкевичу) 555
Метод определения общего фосфора (ГОСТ 26717) 556
Метод определения общего калия (ГОСТ 26718) 558
Анализ торфа 560
Определение кислотности торфа 560
Определение обменной кислотности 560
Определение гидролитической кислотности 560
Расчёт доз минеральных удобрений при внесении в почву, понятие о методах расчета 562
1. Методы, основанные на прямом использовании результатов полевых опытов 562
2. Расчётные методы 562
3. Комплексные методы определения доз удобрений 563
Определение доз удобрений расчётными методами 564
1. Расчёт доз удобрений на планируемую прибавку урожая 564
2. Расчёт дозы удобрений на планируемый урожай с учётом обеспеченности почвы питательными веществами 565

Раздел V. АГРОХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

МЕТОДИКА ПОЛЕВОГО ОПЫТА 567
ВЕГЕТАЦИОННЫЙ МЕТОД 589
ЛИЗИМЕТРИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ 609
ОСНОВЫ СТАТИСТИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКИ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЙ 616
ПРИМЕР ВЫЧИСЛЕНИЯ И ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КОЭФФИЦИЕНТОВ КОРРЕЛЯЦИИ И РЕГРЕССИИ И УСТАНОВЛЕНИЯ ИХ ОШИБОК 632
ПРИЛОЖЕНИЕ – *ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАКТИВОВ* 639
ПРИЛОЖЕНИЕ – *ТАБЛИЦЫ* 656
ЛИТЕРАТУРА 676

Научное издание

Практикум по агрохимии

Под редакцией академика РАСХН
В. Г. Минеева

Изд. лиц. № 040414 от 18.04.97.
Подписано в печать 14.03.2001. Формат 60×90 1/16.
Бумага офс. № 1. Офсетная печать. Усл. печ. л. 43,0.
Уч.-изд. л. 54,1 Тираж 1000 экз. Заказ 4917.
Ордена "Знак Почета" издательство Московского университета.
103009, Москва, ул. Б. Никитская, 5/7.
Отпечатано в Производственно-издательском комбинате ВИНИТИ,
140010, г. Люберцы, Московской обл., Октябрьский пр-т, 403.
Тел. 554-21-86