

**КАЗАНСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИНСТИТУТ ЭКОЛОГИИ И ПРИРОДОПОЛЬЗОВАНИЯ
Кафедра почвоведения**

Р.В. ОКУНЕВ, Е.В. СМИРНОВА, С.С.РЯЗАНОВ

**МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВАЛОВЫХ ФОРМ АЗОТА,
ФОСФОРА И УГЛЕРОДА В ПОЧВАХ И РАСТЕНИЯХ:
УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКОЕ ПОСОБИЕ**

Казань – 2023

УДК 631.4
ББК 40.3

*Принято на заседании учебно-методической комиссии
Института экологии и природопользования
Протокол № 3 от 11 мая 2023 года*

Рецензенты:

кандидат биологических наук, доцент кафедры почвоведения КФУ

К.Г. Гиниятуллин

кандидат биологических наук, доцент кафедры почвоведения КФУ

И.А. Сахабиев

Окунев Р.В., Смирнова Е.В., Рязанов С.С.

Методы определения валовых форм азота, фосфора и углерода в почвах и растениях: учебно-методическое пособие / Р.В. Окунев, Е.В. Смирнова, С.С.Рязанов. – Казань: Казан. ун-т, 2023. – 39 с.

Учебно-методическое пособие содержит информацию о роли азота и фосфора в биосфере, рекомендации по методам определения валовых форм азота, фосфора и углерода в почвах и растениях. Предназначено для студентов, обучающихся по направлению «06.03.02 – Почвоведение»

© Окунев Р.В., 2023
© Казанский университет, 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
1. Определение содержания сухого вещества и гигроскопической воды в растениях и почве	8
2. Определение содержания азота в растениях с применением полуавтоматического аппарата Къельдаля	9
3. Определение содержания азота в почвах с применением аппарата Къельдаля или полуавтоматического аппарата Къельдаля	11
3.1. Определение содержания валового азота по методу Къельдаля	12
3.2. Использование раствора борной кислоты для поглощения аммиака	16
4. Определение содержания органического углерода в почвах	17
5. Фосфор в почвах и методы его определения	22
5.1. Определение содержания валового фосфора после сплавления с углесолями	23
5.2. Мокрое озоление почвы в смеси серной и хлорной кислот	28
5.3. Колориметрический метод определения	29
5.4. Озоление почвы хлорной кислотой	30
5.5. Объемный метод определения фосфора в почвах	30
5.6. Гравиметрическое определение фосфора в составе осадка $P_2O_5 \cdot 24MoO_3$	34
5.7. Гравиметрическое определение фосфора в составе осадка $(NH_4)_3PO_4 \cdot 12MoO_3$	35
6. Определение содержания фосфора в растениях методом мокрого озоления	36
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	39

ВВЕДЕНИЕ

В питании растений органогенные элементы – азот и фосфор занимают особое положение во многих отношениях. В естественно развивающихся почвах азот является самым дефицитным элементом питания. Как в естественных, так и в активно используемых человеком почвах существует в виде ионов, имеющих как положительный, так и отрицательный заряд, которые обладают полярно направленным сродством с почвенными коллоидами. Переменная степень окисления азота обеспечивает ионам возможности разнообразных преобразований в почве, вплоть до выделения из них газообразного азота с последующим диффундированием его в атмосферу. Азот, кроме того, при его избытке в почвенном растворе может накапливаться в определенных растительных тканях про запас, обычно в виде нитрат-иона, что крайне нежелательно для растениеводческой продукции.

В геохимическом отношении азот также занимает особое положение. Подавляющая часть планетарных его запасов сосредоточена в атмосфере Земли. Азот является главной составной частью атмосферного воздуха (75,6% по массе, 78,09% по объему). Двухатомная молекула его имеет тройную ковалентную связь, придающую молекулам газа исключительную устойчивость (нагревание до 3000°C при нормальном давлении обеспечивает диссоциацию лишь 0,1% молекул).

В связанном виде в малых количествах встречается в воздухе, в воде природных водоемов. В литосфере присутствует в небольших количествах в торфе, каменном угле, нефти и некоторых других каустоболитах (горючих ископаемых). Известны также залежи чилийской (натриевой) и индийской (калиевой) селитры, образование которых, равно как и каустоболитов, связывается с деятельностью организмов прошлых геологических периодов. Атмосферный азот при посреднической роли почв преобразуется растениями в аминные группы белковых соединений, которые далее по пищевым цепям поступают в другие организмы.

Фосфор как химический элемент был обнаружен в 1669 году алхимиком Генингом Брандтом. В процессе поиска «философского камня» он выпаривал большое количество мочи с углем и песком и получил вещество, светящееся в темноте. В 1680 году независимо от Брандта фосфор был открыт знаменитым физиком и химиком Робертом Бойлем. Но лишь в 1743 году А. Маркграф нашел более совершенный способ получения фосфора и опубликовал свои данные для всеобщего сведения. После этого наступил период активного исследования свойств этого химического элемента.

В настоящее время известно, что среднее содержание его в земной коре по различным источникам колеблется от 0,08 до 0,12%. По распространенности он занимает 13 место среди химических элементов. Обнаруживается не менее чем в 190 минералах, которые принадлежат как к первичным, так и к вторичным образованиям.

О роли фосфора в реакциях, совершающихся в организмах, накоплено очень много сведений. Необходимость любого организма в больших количествах фосфора наглядно подтверждается исследованием их химического состава. Например, в зольном остатке любого растения содержание фосфора на порядок выше, чем общее его содержание в почве. Это говорит о том, что этот химический элемент, наряду с азотом, кальцием, калием, марганцем и некоторыми другими, является выраженным биофилом.

Поступая в организмы, фосфор, вступая в связь с различными органическими веществами, образует соединения, играющие очень важную роль в их функционировании. В учебниках по биохимии фосфорорганические соединения многократно упоминаются и подробно описываются. Они участвуют в процессе обмена углеводами в ткани мозга, в частности, фосфорсодержащий фермент фосфорилаза способствует синтезу и распаду полисахаридов. Очень важная роль в этих превращениях принадлежит дифосфопиридиннуклеотиду и неорганическому фосфату. Известно также, что сокращение мышц поддерживает

ся энергией, выделяющейся при реакциях с участием аденозинфосфатов. При сокращении мышц молекула аденазинтрифосфата (АТФ) распадается на аденазиндифосфат и неорганическую фосфорную кислоту. При этом освобождается большое количество (8–11 ккал/моль) энергии.

Организм человека необходимое ему количество фосфора получает путем потребления продуктов растительного и животного происхождения, причем в определенных соотношениях. Поскольку растениями он поглощается в больших количествах, то для поддержания необходимого уровня плодородия используемых в сельскохозяйственном производстве почв требуется регулярное его внесение для компенсации выноса из них с получаемой сельскохозяйственной продукцией.

В противоположность азоту, являющемуся компонентом природных органических веществ, фосфор представляет собой составную часть минерального вещества. Он входит в состав магмы преимущественно основного и ультраосновного состава, из которой кристаллизуются фосфорсодержащие минералы. Главнейшими из них являются хлор-фтор-апатиты, месторождения которых разрабатываются для получения фосфорных удобрений.

Первичные фосфорсодержащие минералы, разрушаясь в зоне гипергенеза, формируют большое разнообразие вторичных минералов. Подавляющее большинство из них представлены преимущественно производными ортофосфорной кислоты. Горные породы с содержанием таких соединений, представляющих интерес для промышленной переработки, называются фосфоритами.

Для успешного продуцирования урожая культурные растения должны получать из почвы в необходимых количествах очень многие химические элементы. Но в больших количествах азот, фосфор и калий, которые поэтому и называются макроэлементами питания растений. Теоретические основы необходимости применения в растениеводстве удобрений в настоящем их виде заложены немецким химиком Юстусом Либихом в последней четверти XIX века. Им были обоснованы законы минимума и возврата – фундамент современной

агрохимической науки и побудительная причина развития химического производства минеральных (фосфорных и калийных) удобрений.

В настоящее время в качестве фосфорных удобрений используются как природные фосфориты после их размельчения, так и вещества, произведенные с применением специальных промышленных технологий.

Данное учебно-методическое пособие предназначено для студентов, обучающихся по направлению «06.03.02 – Почвоведение», а также может быть полезным для студентов других направлений, которые в своей учебно-научной деятельности занимаются исследованием почв и растений.

1. Определение содержания сухого вещества и гигроскопической воды в растениях и почве

Так как подсчет содержания азота, фосфора, а так же любых других элементов проводится на абсолютно-сухую навеску, необходимо знать содержание воды в образцах. Метод основан на измерении убыли в весе воздушно-сухого вещества при высушивании его в сушильном шкафу при 105°C до постоянного веса.

Ход анализа. Чистые стеклянные бюксы предварительно просушивают 30 минут в сушильном шкафу при температурѐ 105°C в открытом виде, затем охлаждают в эксикаторе и взвешивают вместе с крышкой на аналитических весах с точностью до 0,001 г. Из подготовленной аналитической пробы берут в них по две навески воздушно-сухого размолотого материала от 2,5 до 5,0 г. Тонина помола та же, что и для других видов анализа, которым сопутствует определение гигроскопической воды. Затем бюксы вместе со снятыми с них крышками помещают в сушильный шкаф, температура в котором отрегулирована на 105°C, и выдерживают в нем в течение 4–6 часов (в зависимости от анализируемого продукта), после чего закрывают их крышками, охлаждают до комнатной температуры в эксикаторе и взвешивают опять на тех же весах. Затем дополнительно сушат еще 2 часа, охлаждают и взвешивают. Если разница в весе после первого и второго высушивания не более 0,002 г, то высушивание на этом заканчивают. Содержание гигроскопической воды рассчитывают по формуле:

$$W = \frac{a_1 - a_2}{a_1 - a} \quad (1)$$

где W – содержание гигроскопической воды, %;

a – вес бюкса, г;

a_1 – вес бюкса с навеской до высушивания, г;

a_2 – вес бюкса с навеской после высушивания, г;

100 – для пересчета в проценты.

Разница между двумя параллельными определениями, отнесенная к сред-

ней арифметической из них, не должна превышать 5%.

Содержание абсолютно сухого вещества в процентах вычисляют, вычитая из 100 полученное содержание гигроскопической воды.

2. Определение содержания азота в растениях с применением полуавтоматического аппарата Кьельдаля

Злаковые зерновые и бобовые культуры являются основным источником растительного белка. В зерне злаковых культур содержится от 7 до 28%, а у бобовых – от 20 до 35% белка. Высоким содержанием белка отличаются семена масличных культур. Содержание белка в товарной части урожая у каждого вида растений является величиной относительно стабильной и определяется главным образом генетическими особенностями культуры.

Метод основан на кислотном разложении растительного материала в присутствии катализатора и окислителя, отгонки азота (аммиака) минерализата в борную кислоту. Аммиак при этом образует с борной кислотой борат аммония. Полученный борат аммония титруют раствором серной кислоты в присутствии смешанного индикатора Гроака до изменения зеленой окраски в красно-фиолетовую.

Ход анализа. В колбы Кьельдаля взвешивают по 0,25 г высушенного растительного материала (стеблей или листьев растений), 0,2–0,7 г кормов растительного происхождения, 0,3–0,5 г муки животного происхождения с погрешностью не более 0,001 г. Для минерализации в колбу добавляют 2 г катализатора. Он состоит из 10 весовых частей сернокислой меди и 100 весовых частей сернокислого калия. Так же допускается заменять сернокислый калий надсернокислым калием или сернокислым натрием в том же количестве. После прибавления катализатора осторожно приливают 10–12 мл концентрированной серной кислоты. Затем добавляют в колбу Кьельдаля 10 см водного раствора перекиси водорода с массовой долей 30% в качестве окислителя. После прекращения бурной реакции приливают такое же количество концентрированной

серной кислоты. Колбу устанавливают на нагреватель так, в горло колбы вставляют маленькую стеклянную воронку или втулку для уменьшения улетучивания кислоты во время минерализации. Вначале колбу нагревают умеренно, чтобы предотвратить бурное пенообразование. При нагревании навеску время от времени помешивают вращательными движениями колбы. После исчезновения пены нагревание усиливают, пока жидкость не будет доведена до постоянного кипения. Нагрев считается нормальным, если пары кислоты конденсируются ближе к середине горла колбы Кьельдаля, избегая перегрева стенок колбы, не соприкасающихся с жидкостью. После того как жидкость обесцветится (допускается слегка зеленоватый оттенок), нагрев продолжают в течение 30 мин. После охлаждения минерализат количественно переносят в отгонную колбу.

Если для сжигания используется дигестор, то после установки колб дигестора и подключения дигестора к коллектору (или сукубберу), рекомендуется нагревать содержимое 20 минут – при 300°C, и постепенно нагревать до 400–450°C и выдерживать при данной температуре 30–60 минут, с последующим самостоятельным охлаждением колб.

После охлаждения необходимо медленно добавить в колбы по 20 мл дистиллированной воды, и количественно перенести содержимое колб в отгонную колбу. Если использовались колбы для дигестии, часто они же и являются отгонными колбами. В этом случае переносить минерализат не надо.

При работе с полуавтоматическим аппаратом Кьельдаля рекомендуются следующие условия отгонки. В приемный стакан, в которую будет проводиться отгонка аммиака, мерным цилиндром вносят 25 мл 4 % раствора борной кислоты, добавляют 3 капли смешанного индикатора Гроака. Подставляют приемный стакан под трубку аппарата Кьельдаля и отгоняют аммиак до тех пор, пока объем раствора в приемнике не увеличится примерно до 150–200 мл (более 200 секунд). Аппарат Кьельдаля настраивают на следующие параметры: количество воды – 20 мл, количество щелочи 33% – 80 мл. По окончании отгона содержимое приемника титруют 0,02 н. раствором H_2SO_4 . Окончание титрования уста-

наливают по переходу зеленой окраски в красно-фиолетовую. Содержание валового азота вычисляют по формуле:

$$N = \frac{(V1-V0) \cdot K \cdot 0,0014 \cdot 100}{p} \quad (2)$$

где N – массовая доля азота в испытуемой пробе, %;

$V1$ – объем раствора серной кислоты, израсходованный на титрование испытуемого раствора, см;

$V0$ – объем раствора серной кислоты, израсходованный на титрование в контрольном опыте, см;

K – поправка к титру раствора серной кислоты ($1/2$)=0,05 моль/дм, если он приготовлен не из стандарт-титра;

0,0014 – масса азота, эквивалентная массе серной кислоты, содержащейся в 1 см раствора ($1/2$)=0,05 моль/дм;

p – масса навески, г;

100 – коэффициент пересчета в проценты.

3. Определение содержания азота в почвах с применением аппарата Къельдаля или полуавтоматического аппарата Къельдаля

В верхних горизонтах почв преобладающая часть азота (до 95–99 %) связана в органических соединениях. Поэтому наблюдается прямая зависимость между накоплением в почвах органического вещества и содержанием азота.

Минеральные соединения азота в пахотных горизонтах составляют лишь небольшую часть (1–5 %) общего азота. Они представлены в основном нитратами, соединениями аммония и немного нитритами. Питание растений в почве в основном обеспечивается азотом нитратов и обменным аммонием.

Органическое вещество почвы служит главным резервом, поставляющим растениям минеральный азот, в результате деятельности микроорганизмов, использующих органическое вещество почвы как источник энергии, происходит аммонификация азотосодержащих органических соединений. Значительная

часть освободившегося при этого аммония подвергается нитрификации.

Для более полной характеристики азотного фонда в лабораторной практике принято определять валовое содержание азота в почве по классическому методу Къельдаля, предложенному им еще в 1883 г.

3.1. Определение содержания валового азота по методу Къельдаля

Метод основан на разложении органических веществ почвы концентрированной серной кислотой при кипячении, в результате чего аминный азот (азот аминогруппы NH_2 , входящий в состав аминокислот и амидов) переходит в аммиачную форму и связывается серной кислотой в виде сернокислого аммония.

Раствор после сжигания из колбы Къельдаля переносят в отгонную колбу, нейтрализуют избыточным количеством щелочи, отгоняют аммиак в приемник с раствором борной кислоты. Аммиак образует с борной кислотой борат аммония. Полученный борат аммония титруют раствором серной кислоты в присутствии смешанного индикатора Гроака до изменения зеленой окраски в красно-фиолетовую.

Ход анализа. На аналитических весах из подготовленной для определения азота (очищенной от корешков и пропущенной через сито с диаметром ячеек 0,25 мм) средней пробы берут 2–5 г навески почвы. Величина навески зависит от содержания азота в почве. Навеску берут на кусочек кальки или в сухую пробирку. Навеску почвы вносят в сухую чистую колбу Къельдаля и высыпают, не распыляя, на дно колбы. Пробирку или кальку взвешивают и по разности между весом пробирки с почвой (или кальки с почвой) и без почвы находят величину навески, взятой для определения общего азота.

В колбу с почвой вносят две крупинки металлического селена (около 0,05 г) как катализатора. Селен ускоряет процесс разложения органических веществ почвы, так как концентрированная серная кислота окисляет селен до селенистой кислоты. Селенистая кислота в кислом растворе под действием восстано-

вителя – органического вещества, восстанавливается до элементарного селена.

Цикл окисления и восстановления селена продолжается до полного разрушения органического вещества почвы.

В колбу с навеской вносят мерным цилиндром 20 мл концентрированной H_2SO_4 (плотность 1,84). Содержимое колбы перемешивают круговым движением, в то же время, не размазывая суспензию по всему дну колбы. Навеска должна быть смочена кислотой полностью, чтобы не осталось сухих пятен на дне колбы. В этом месте колба может лопнуть от перегрева.

Колбу закрывают особой стеклянной пробкой и устанавливают в вытяжном шкафу над газовой горелкой в наклонном положении, горловиной к стене. Нагревать начинают на медленном огне. Когда температура достигает 160°C и выше происходит сильное испарение H_2SO_4 . При дальнейшем повышении температуры пары серной кислоты разлагаются до SO_3 и H_2O .

Охлаждаясь SO_3 и H_2O концентрируются и образуют белый "дымок", заполняющий колбу. Когда начинается выделение белого дымка, нагрев увеличивают и доводят до слабого кипения. Верхняя часть длинного горла колбы, служащая холодильником, должна оставаться холодной, чтобы обеспечить конденсацию паров кислоты.

Кипение серной кислоты все время должно быть слабым. Сильное кипение ведет к потере азота вследствие частичного разложения сульфата аммония. Продолжительность сжигания зависит от состава органических веществ почвы. Сжигание считается законченным, когда раствор над минеральным остатком становится бесцветным, а остаток на дне колбы почти белым. После этого нагревание продолжают 20–30 мин.

Колбу охлаждают до комнатной температуры, снимают пробку и обмывают ее дистиллированной водой над чистым стаканом. Затем, водой из этого стакана осторожно обмывают горло колбы. Взаимодействие остатка H_2SO_4 в колбе с водой в первый момент проходит бурно, поэтому разбавление кислоты в колбе Кьельдаля следует вести осторожно, приливая воду по стенке колбы

небольшими порциями. Содержимое колбы разбавляют водой примерно до половины.

Разбавленный раствор переливают из колбы Къельдаля в плоскодонную отгонную колбу емкостью 750 мл, которая должна быть изготовлена из термостойкого стекла. Колбу Къельдаля многократно обмывают из промывалки небольшими порциями дистиллированной воды. Промывную жидкость сливают в отгонную колбу. Обмывание ведут до тех пор, пока в отгонной колбе не наберется 300–400 мл раствора. В приемник (стакан емкостью 300–400 мл) для улавливания аммиака доливают из бюретки 20–25 мл 0,05 н раствора серной кислоты, прибавляют туда 3 капли смешанного индикатора Гроака. Приемник подставляют под трубку холодильника так, чтобы конец этой трубки был погружен в кислоту на глубину до 5 мм. Приемник ставят на подставку так, чтобы, вынимая ее, можно было опустить его вниз и освободить трубку от кислоты, когда жидкость в перегонной колбе начнет кипеть и первые капли конденсата попадут в приемник.

Мерным цилиндром берут 40% раствор NaOH в количестве 4 раза больше, чем было взято концентрированной серной кислоты для сжигания, наклоняют отгонную колбу, не перемешивая ее содержимого, приливают по стенке колбы раствор щелочи. Щелочь как тяжелая жидкость опускается на дно под слой кислоты. Бросают в отгонную колбу кусочек цинка (или цинковой пыли) для спокойного кипения и быстро, но осторожно присоединяют колбу через каплеуловитель к отгонному аппарату, осторожно перемешивают содержимое круговым движением с целью нейтрализации кислоты и создания щелочной среды, необходимой для вытеснения аммиака и сульфата аммония.

Пускают воду в холодильник, под отгонную колбу ставят горелку/плитку (пламя не должно быть сильным) и доводят раствор до кипения. Нагревание регулируют так, чтобы кипение было спокойным. По мере нагревания выделение аммиака усиливается. Поскольку аммиак нейтрализуется кислотой, давление внутри отгонной колбы снижается и происходит некоторое засасывание жидко-

сти из приемника в трубку холодильника. Как бы сильно не было засасывание, вынимать трубку из титрованного раствора кислоты нельзя до тех пор, пока раствор в отгонной колбе не закипит. При кипении раствора кроме аммиака выделяются пары воды, которые конденсируются в холодильнике и поглощают газообразный аммиак, в результате чего аммиак в приемник поступает в виде водного раствора.

Спустя 5–7 мин после начала кипения раствора, подставку из-под приемника вынимают и приемник опускают вниз. С этого момента конец трубки держат выше приемной жидкости, чтобы предохранить ее от перебрасывания в отгонную колбу. Перебрасывание приемной жидкости в отгонную колбу может сопровождаться опасным взрывом. Поэтому раствор во время перегонки нельзя оставлять без наблюдения.

Кипячение в отгонной колбе продолжают до тех пор, пока не останется примерно половина ее содержимого (около 200 мл). Полноту отгонки проверяют реактивом Несслера. Для этого конец трубки холодильника обмывают дистиллированной водой снаружи над приемником, чтобы смыть с нее остаток титрованного раствора кислоты с поглощенным аммиаком. После этого набирают в фарфоровую чашку 2–3 капли жидкости и прибавляют каплю реактива Несслера. Раствор должен оставаться бесцветным или цвета реактива Несслера.

По окончании отгонки прекращают нагревание и отключают холодильник. После остывания обмывают дистиллированной водой стенки трубки холодильника и приемника. Избыток кислоты в приемнике оттитровывают раствором щелочи примерно такой же нормальности, как раствор кислоты, взятой для поглощения аммиака. Титрование ведут до перехода красно-фиолетовой окраски индикатора Гроака в зеленую. Переход окраски резкий, поэтому точность определения этим индикатором высокая.

Для выяснения чистоты реактивов желательно вести параллельно холостой опыт.

$$N = \frac{(a \cdot N_1 \cdot K_1 - b \cdot N_2 \cdot K_2) \cdot 0,014 \cdot 100}{p} \quad (3),$$

где N – массовая доля азота в испытуемой пробе, %;

a – количество раствора H_2SO_4 , взятого в приемник;

$H1$ – нормальность раствора H_2SO_4 ;

$K1$ – поправочный коэффициент нормальности раствора H_2SO_4

b – количество мл раствора $NaOH$, использованного для титрования остатка кислоты;

$H2$ – нормальность раствора $NaOH$;

$K2$ – поправочный коэффициент нормальности раствора $NaOH$;

0,014 – величина мг-экв азота (в г);

p – масса навески, г;

100 – коэффициент пересчета в проценты.

3.2. Использование раствора борной кислоты для поглощения аммиака

При определении азота выделяющийся во время перегонки аммиак более удобно поглощать раствором борной кислоты. Аммиак при этом образует с борной кислотой борат аммония. Полученный борат аммония титруют раствором серной кислоты в присутствии смешанного индикатора Гроака до изменения зеленой окраски в красно-фиолетовую. Поскольку в этом случае проводится прямое титрование аммиака, техника определения и вычисления результатов упрощается.

Ход анализа. В приемный стакан вместо раствора серной кислоты (как было описано выше) мерным цилиндром вносят 25 мл 4 % раствора борной кислоты, добавляют 3 капли смешанного индикатора Гроака. Подставляют приемный стакан под трубку холодильника в установке для отгонки аммиака и отгоняют аммиак до тех пор, пока объем раствора в приемнике не увеличится примерно до 200 мл. Конец отгонки аммиака определяют отсутствием реакции с реактивом Несслера последних 2–3 мл дистиллята.

По окончании отгона конец трубки холодильника ополаскивают водой, собирав воду в приемник и содержимое приемника титруют 0,02 н. раствором

H₂SO₄. Окончание титрования устанавливают по переходу зеленой окраски в красно-фиолетовую. Содержание валового азота в почве вычисляют по формуле:

$$N = \frac{(a \cdot H1 \cdot K1) \cdot 0,014 \cdot 100}{p} \quad (4),$$

где N – массовая доля азота в испытуемой пробе, %;

a – количество раствора H₂SO₄, пошедшее на титрование;

H1 – нормальность раствора H₂SO₄;

K1 – поправочный коэффициент нормальности раствора H₂SO₄

0,014 – величина мг-экв азота (в г);

p – масса навески, г;

100 – коэффициент пересчета в проценты.

4. Определение содержания органического углерода

Гумус является важным фактором плодородия почв, поэтому содержание его определяют почти во всех почвенных исследованиях. В его состав входят группа специфических гумусовых веществ, составляющих главную часть (85–90%) гумуса, а также обширная группа индивидуальных органических соединений и негумифицированных продуктов их распада, составляющих до 15 % гумуса.

При определении общего содержания гумуса учитываются все формы органического вещества почвы. Поэтому при подготовке ее к определениям гумуса тщательно отбирают корешки и другие органические остатки, чтобы по возможности исключить органические вещества негумусовой природы.

Имеется ряд методов определения гумуса почвы. Классический метод определения гумуса почвы разработан русским ученым Г.Г. Густавсоном. Этот метод основан на сухом сжигании гумуса до углекислого газа при прокаливании почвы. Выделяемый при этом углекислый газ собирают, взвешивают и по его весу вычисляют содержание гумуса в почве. В настоящее время широко используется методика определения гумуса по И.В.Тюрину в модификации

В.Н.Симакова. Метод И.В.Тюрина основан на окислении углерода гумуса почвы до углекислого газа 0,4 н раствором двуххромовокислого калия ($K_2Cr_2O_7$), приготовленного на серной кислоте, разведенной в воде в объемном соотношении 1:1. По количеству кислорода хромовой смеси, пошедшего на окисление углерода гумуса, учитывают содержание углерода гумуса или гумуса в почвах. Поэтому метод является косвенным, так как он основан не на учете углерода, имеющегося в составе гумуса, а на учете кислорода, расходуемого для окисляемого углерода гумуса. Окисление происходит в сильноокислой среде и сопровождается восстановлением шестивалентного хрома в трехвалентный. После окисления углерода гумуса избыток хромовой смеси в растворе учитывают титрованием раствором соли Мора ($FeSO_4(NH_4)_2SO_4 \cdot 6H_2O$).

Данный метод непригоден для почв, содержащих свыше 0,6% хлоридов, закисных соединений железа и марганца, так как часть хромовой смеси расходуется на окисление этих соединений, что завышает результаты анализа. Метод неприменим также при содержании гумуса свыше 15 %, потому что при этом не достигают полноты окисления гумуса. Для таких почв следует применять метод Кюппа-Сабанина. Карбонаты в почвах не мешают определению гумуса.

Ход анализа. Из подготовленной (путем тщательного отбора корешков и растирания в агатовой ступке до полного просеивания через сито с отверстиями диаметром 0,25 мм) средней пробы почвы берут навеску на аналитических весах. Величина навески зависит от содержания гумуса в анализируемой почве. О приближенном содержании гумуса судят по окраске почвы. При содержании гумуса больше 7 % (черная) – 0,1 г, 7–4 % (темно-серая) – 0,2 г, 4–2 % (серая) – 0,3 г и при меньше 2 % гумуса (светло-серая) – 0,5 г.

Взятую на кальку навеску почвы осторожно, не распыляя, переносят в сухую коническую колбу на 100 мл. В колбу из бюретки медленно, по каплям, чтобы вязкая жидкость полностью стекла со стенок бюретки, приливают точно 10 мл 0,4 н раствора хромовой смеси, причем каждый раз отмеривая от нуля. Содержимое колбы осторожно перемешивают круговым движением.

В колбу вставляют маленькую воронку, которая служит обратным холодильником, ставят колбу на асбестовую сетку, содержимое колбы доводят до кипения и кипятят 5 мин с момента появления крупных пузырьков CO_2 . Бурного кипения не допускают, так как это приводит к искажению результатов из-за возможного разложения хромовой смеси. Кипение должно быть слабым и равномерными. При массовых анализах рекомендуется кипячение заменить нагреванием в сушильном шкафу при 150° в течение 30 мин с момента достижения температуры.

Колбу охлаждают, воронку и стенки колбы обмывают из промывалки небольшим количеством дистиллированной воды, доводя объем до 30–40 мл. Прибавляют в колбу 5 капель 0,2 % раствора фенилантраниловой кислоты и титруют 0,2 н раствором соли Мора. Конец титрования определяют переходом вишнево-фиолетовой окраски от одной капли раствора соли Мора в ярко-зеленую. При избытке восстановителя индикатор переходит из окисленной (красно-фиолетовой) окраски в восстановленную (бесцветную) форму, вследствие чего становится заметной зеленая окраска трехвалентного хрома.

Параллельно проводят холостое определение, вместо Навески почвы используют прокаленную почву (0,1–0,2 г) для установления соотношения между 0,4 н раствором $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ и 0,2 н. раствором соли Мора. Для этой цели в три конические колбы по 100 мл отмеривают из бюретки по 10 мл раствора $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, добавляют прокаленную почву, кипятят 5 мин (или выдерживают 30 мин в сушильном шкафу при 150°), прибавляют 5 капель фенилантраниловой кислоты и титруют раствором соли Мора. Если при холостом определении не используется прокаленная почва, то кипятить нельзя (можно определить без кипячения). Из трех параллельных определений холостого опыта устанавливают среднюю величину.

Содержание гумуса вычисляют по формуле:

$$\text{Гумус} = \frac{(a-b) \cdot K \cdot 0,0010362 \cdot 100}{p} \quad (5),$$

где Гумус – массовая доля гумуса в испытуемой пробе, %;

a – количество мл 0,2 н раствора соли Мора, использованное на титрование 10 мл хромовой смеси при холостом титровании;

b – количество 0,2 н раствора соли Мора, использованное на титрование остатка хромовой смеси после окисления гумуса в опыте;

K_1 – поправочный коэффициент нормальности раствора соли Мора;

0,0010362 – экспериментально установлено, что 1 мл 0,2 н раствора соли Мора соответствует такому количеству хромовой кислоты, которое окисляет 0,0010362 г гумуса или 0,0006 г углерода (коэффициент Ищерекова);

p – масса навески, г;

100 – коэффициент пересчета в проценты.

Если необходимо вычислить содержание углерода гумуса, то исходят из расчета, что в составе гумуса содержится в среднем 56% органического углерода, поэтому содержание гумуса умноженное на 0,58, и наоборот, содержание органического углерода умноженное на 1,724 будет равняться содержанию гумуса.

Реактивы:

1. 0,4 н раствор $K_2Cr_2O_7$ в разбавленной 1:1 серной кислоте. Берут 40 г тонкоизмельченного в фарфоровой ступке кристаллического $K_2Cr_2O_7$, растворяют примерно в 500–600 мл дист. воды (можно с подогреванием) и фильтруют через бумажный фильтр в мерную колбу емкостью 1 л. Раствор доводят до метки дистиллированной водой и переливают в большую колбу (емкостью 2,5–3 л из термостойкого стекла. К этому раствору под тягой приливают небольшими порциями (примерно по 100 мл) 1 л H_2SO_4 (пл. 1,84) с интервалами в 15–20 мин при осторожном многократном перемешивании. При пришивании серной кислоты к раствору $K_2Cr_2O_7$ происходит сильное нагревание жидкости, поэтому надо быть особенно осторожными. Смесь закрывают воронкой или стеклом и оставляют охлаждать до следующего дня, еще раз перемешивают, переливают для хранения в склянку с притертой пробкой.

2. 0,2 н. раствор соли Мора. Берут 80 г соли Мора (используют только го-

лубые кристаллы, побуревшие отбрасывают) и 20 мл H_2SO_4 (пл. 1,84) из расчета на 1 л воды. Навеску соли Мора растворяют на холоде в некотором количестве дист. воды, раствор фильтруют через складчатый бумажный фильтр. К фильтрату добавляют необходимое по расчету для взятой навески количество конц. серной кислоты, доводят раствор дист. водой до нужного объема и тщательно перемешивают. Нормальность раствора соли Мора устанавливают и проверяют по 0,1 н. раствору $KMnO_4$, для уточнения нормальности раствора соли Мора вводят поправочный коэффициент нормальности этого раствора. Для установления его берут из бюретки 10 мл раствора соли Мора в коническую колбу на 100 мл, приливают в Колбу мерным цилиндром 1 мл концентрированной H_2SO_4 и титруют 0,1 н. раствором $KMnO_4$ на холоду до слабо-розовой окраски, не исчезающей в течение 1 мин.

Титрование выполняют в трех повторностях. Поправочный коэффициент нормальности раствора соли Мора вычисляют по формуле:

$$K1 = \frac{n2 - y2 \cdot}{n1 - y1} \quad (6),$$

где $n2$ – нормальность раствора $KMnO_4$;

$y2$ – объем раствора $KMnO_4$ (в мл), использованного на титрование;

$n1$ – нормальность раствора соли Мора (мл);

$y1$ – объем раствора соли Мора (в мл), взятый на титрование.

Раствор 0,2 % фенилантраниловой кислоты. 0,2 г навески фенилантраниловой кислоты ($C_{13}H_{11}O_2N$) растворяют в 100 мл 0,2% раствора Na_2CO_3 . Для лучшего смачивания порошка этой кислоты предварительно взятую навеску растирают стеклянной палочкой в небольшой фарфоровой чашке с небольшим количеством 0,2 н раствора соды до сметанообразного состояния, а потом добавляют остальное количество раствора соды и тщательно перемешивают.

Прокаленные пемза или почва. Растертая и просеянная через сито с отверстиями в 1 мм малогумусная почва (нижние горизонты) или пемза прокаливается в муфельной печи при красном калении в течение 1–2 ч.

5. Фосфор в почвах и методы его определения

Фосфор в почвах находится в составе органических и минеральных соединений. Общее содержание его в почвах колеблется от 0,10 до 0,25 %. В почвах он всегда содержится в пятивалентном виде, т.е. в виде P_2O_5 , и образует обширную группу соединений фосфорных кислот и их солей (фосфатов). Фосфаты в зависимости от состава и связи их соединений различаются по растворимости в воде и других растворителях. В связи с этим имеет большое значение определение групп фосфатов в почвах, отличающихся различной растворимостью и доступностью для растений.

Выделяют 5 групп почвенных фосфатов:

1. Хорошо доступна растениям на всех почвенных типах и обычно усваивается целиком;
2. Хорошо доступна всем растениям на кислых и слабокислых почвах, менее – на нейтральных и щелочных почвах. Внесение физиологически кислых удобрений резко повышает использование фосфатов второй группы на почвах с нейтральной и щелочной реакциями;
3. Малодоступна растениям на всех почвенных типах. Известкование кислых полей, посев многолетних трав, внесение органических удобрений и регулирование азотно-калийного фона удобрений повышают доступность фосфатов этой группы;
4. Органофосфаты – практически недоступны растениям без их предварительного разложения биохимическим и химическим путем;
5. Совершенно недоступна растениям и практически не принимает участия в круговороте фосфора в почвах, так как их разложение в почвах идет чрезвычайно медленно.

5.1. Определение содержания валового фосфора после сплавления с углесолями

Для определения валового фосфора в почвах надо разрушить его органические и минеральные соединения и перевести входящий в их состав фосфор в раствор.

Классическим методом определения валового фосфора (как и других элементов) является сплавление почвы со смесью безводных углекислого калия и натрия в весовом соотношении 1:1. Смесь KNaCO_3 плавится при температуре 712°C , что значительно ниже температуры плавления каждой соли по отдельности. Na_2CO_3 плавится при 850°C , а K_2CO_3 – при 896°C . Отдельные минералы в составе почв плавятся при очень высокой температуре: кварц – 1700°C , мусковит – 1280° , ортоклаз – 1215°C и т.д. Когда почва, являющаяся смесью различных минералов и органических веществ, смешивается с углесолями, температура плавления значительно снижается.

Разложение почвы путем сплавления с углесолями основано на образовании щелочных солей кремниевой кислоты и других растворимых соединений

Ход анализа. На аналитических весах берут $0,5\text{--}1,0\text{ г}$ навески растертой в агатовой ступке до состояния пудры почвы и переносят в сухой платиновый тигель. На технических весах отвешивают на кальке 6 г растертой в тонкий порошок смеси KNaCO_3 . Около 1 г этой соли (на глаз) отделяют в сторону для покрытия смеси в тигле. Остальную массу соли (около 5 г), добавляя небольшими порциями, тщательно перемешивают стеклянной палочкой в тигле с навесной почвы до однородной массы. Высыпают оставленную часть смеси солей, покрывал ею равномерно смесь в тигле. Для лучшего прогревания уплотняют содержимое тигля слабым постукиванием по поверхности стола.

Тигель закрывают платиновой крышкой и помещают в холодную муфельную печь. Включают печь и постепенно повышают температуру. Плавление начинается при температуре около 300°C , а полное плавление происходит при температуре около 900°C . Конец плавления сопровождается прекращением

выделения пузырьков углекислоты газа и масса на дне тигля переливается слабыми струйками.

Раскаленный тигель вынимают из муфельной печи длинными щипцами и охлаждают, опустив дно тигля до половины его высоты в дист. воду, налитую в широкую фарфоровую кашку.

После охлаждения в тигель наливают немного горячей дист. воды, дают постоять 2–3 мин, затем сплав начинают обрабатывать круговым движением стеклянной палочки и постепенно переносят его в фарфоровую кашку. Эту операцию повторяют несколько раз. При обработке сплава водой происходит разложение натриевой соли метакремниевой кислоты с выделением белого геля кремниевой кислоты. Часто сплав после обработки горячей дистиллированной водой не полностью отделяется от чашки. Для полного его извлечения применяют соляную кислоту, разбавленную дист. водой в соотношении 1:1. Поскольку при взаимодействии углекислых солей с соляной кислотой происходит бурное выделение углекислого газа, эту операцию надо проводить осторожно, прикрывая чашку часовым стеклом. Сплав полностью переносят в чашку. Осторожно по стенке чашки приливают еще 20 мл, конц. HCl (пл. 1,19). По мере разрушения карбонатов и образования хлоридов раствор становится желтым от хлорида железа, что служит показателем его кислой реакции. Помешивая стеклянной палочкой, добиваются полного растворения сплава.

Необходимо осадить и отделить из раствора кремнезем. Под действием соляной кислоты на силикат натрия и калия происходит выделение в раствор свободной метакремниевой кислоты. Метакремниевая кислота, выделяющаяся при этой реакции, представляет собой золь, состоящий из отрицательно заряженных частиц – мицелл. Поскольку в двойном электрическом слое мицелл в качестве противоионов находятся ионы водорода, то прибавление соляной кислоты нарушает ионное равновесие и вызывает коагуляцию коллоидных частиц с образованием геля кремниевой кислоты – $\text{SiO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, который выпадает на дне чашки в виде белого студенистого осадка. Коагуляция будет более полной и

быстрой в присутствии раствора желатина, состоящего из положительно заряженных коллоидных частиц

Приливают мерным цилиндром 30 мл конц. HCl смачивая края чашки. Тщательно перемешивают содержимое чашки палочкой и оставляют на горячей (60–70°C), но уже не кипящей бане на 10 мин. Далее вливают по каплям в чашку при помешивании 5 мл 1 % раствора желатины (пипеткой), тщательно размешивают стеклянной палочкой и оставляют на 10 мин на горячей, но не кипящей бане.

Приливают 30 мл горячей дист. воды для снижения кислотности раствора перед фильтрованием, хорошо перемешивают содержимое чашки, дают постоять на бане около 10 мин для охлаждения геля.

Фильтруют содержимое чашки через фильтр с белой лентой в мерную колбу на 250 мл. В процессе фильтрования осадок постепенно переносят на фильтр. Чашку 3 раза обмывают 1 % раствором соляной кислоты и сливают на фильтр. Чашку тщательно очищают от частиц кремниевой кислоты кусочками беззольного фильтра, присоединяя их к осадку, находящемуся в воронке.

Осадок кремниевой кислоты на фильтре промывают небольшими порциями 1 % раствора соляной кислоты и после 5–6 раз промывания проверяют присутствие в фильтрате иона трехвалентного железа. Для этого в маленькую фарфоровую чашку набирают 2–3 капли фильтрата и добавляют 1–2 капли раствора роданистого калия или роданистого аммония. Если присутствует ион железа, жидкость окрашивается в розовый цвет.

Когда нет реакции на железо, в фильтрате начинают промывать осадок горячей дист. водой и продолжают до потери реакции на хлор (обычно 2–3 раза). Осадок с фильтром подсушивают на воздухе, затем помещают в доведенный до постоянного веса тигель, обугливают на плитке и помещают в муфельную печь, где прокаливают до постоянной массы при температуре 900°C. Если необходимо, вычисляют содержание кремнезема по формуле:

$$X = \frac{a \cdot 100}{p} K \quad (7),$$

где X – содержание SiO_2 в %;

a – масса прокаленного осадка кремнезема, г;

p – навеска воздушно-сухой почвы, г;

K – коэффициент пересчета на сухую почву.

Далее фильтрат в мерной колбе на 250 мл доводят до метки дист. водой, тщательно перемешивают, закрывают пробкой и делают надпись на колбе.

Для определения валового фосфора из фильтрата после отделения кремнезема берут пипеткой 25 мл и переносят в мерную колбу на 100 мл. К взятому объему исследуемого раствора прибавляют по каплям при помешивании для осаждения железа 6 мл 10 % раствора $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ и спустя 5 мин – 5 мл 10 % раствора MnSO_4 для связывания избытка $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$. При добавлении этих реактивов цвет раствора в колбе после осаждения железа становится голубым.

После стояния в течение 10 мин содержимое колбы титруют 10 % раствором аммиака до момента резкого перехода голубой окраски раствора в сиреневую. Титровать надо осторожно, помешивая после каждой капли аммиака круговым движением колбы. При этом значение рН раствора устанавливается 6,8–6,9, при котором комплексные соединения железа и марганца удерживаются в осадке.

В связи с тем, что при этой реакции осаждается и фосфор, для его растворения добавляют 3,5 мл 2 н раствора H_2SO_4 . Содержимое колбы доводят до метки дист. водой, перемешивают и фильтруют через двойной плотный фильтр. Не промывают. Для колориметрического определения валового фосфора берут пипеткой 15 мл прозрачного фильтрата, свободного от железа, и переносят в мерную колбу на 100 мл. Разбавляют дист. водой до 70–80 мл.

Приливают в мерную колбу 5 мл молибденовой смеси (1 часть 10 % раствора молибденовокислого аммония, плюс 3 части 50 % раствора H_2SO_4) и взбалтывают. Затем добавляют 8 капель свежеприготовленного раствора SnCl_2 (хлористого олова), взбалтывают, доводят до метки дист. водой, еще

взбалтывают и оставляют на 5 мин для развития окраски. Колориметрируют на спектрофотомере с красным светофильтром. Вычисляют фосфор по следующей формуле:

$$X = \frac{a \cdot V1 \cdot V3 \cdot 100}{p \cdot V2 \cdot V4} K \quad (8),$$

ИЛИ

$$X = \frac{a \cdot V1 \cdot V3 \cdot 100}{p \cdot V2 \cdot V4 \cdot 1000} K \quad (9),$$

где X – содержание P_2O_5 в анализируемом растворе (в мг – формула 7, в % - формула 8);

a – отчет по калибровочному графику, г;

p – навеска воздушно-сухой почвы, г;

K – коэффициент пересчета на сухую почву.

$V1$ – первоначальный объем раствора после отделения кремнезема (250 мл);

$V2$ – объем раствора, взятый для осаждения железа (25 мл);

$V3$ – объем раствора после осаждения железа (100 мл);

$V4$ – объем раствора, взятый для непосредственного определения фосфора (15 мл);

100 – коэффициент вычисления в процентах;

1000 – коэффициент перевода мг в г.

Описанный выше классический метод определения валового фосфора путем сплавления со щелочами длителен, трудоемок и требует наличия платиновой посуды. Имеющиеся другие методы определения валового фосфора, где не требуется. Наличие платиновой посуды, также длительно и не обеспечивают полного разложения органической и минеральной части почвы.

В последнее время широкое распространение получили ускоренные методы разложения навески почвы хлорной кислотой, смесью хлорной и азотной,

смесью хлорной и серной кислот, смесью серной кислоты и хлората калия и др. Указанные методы дают результаты очень близкие к данным, полученным при использовании классических методов анализа, но значительно менее трудоемкие, и разлагают навеску почвы за сравнительно короткий срок (от 15–30 мин до 2–4 ч).

5.2. Мокрое озоление почвы в смеси серной и хлорной кислот

По данному методу навеску почвы сжигают в смеси конц. H_2SO_4 с добавлением HClO_4 в качестве катализатора. В данном случае разложение серной кислоты ускоряется и происходит уже при температуре не 338°C , а около 215°C . Кроме того, хлорная кислота активно участвует и в окислении органических веществ почвы. При использовании указанной смеси кислот значительно сокращается время озоления навески почвы. Обычно для сжигания одного образца требуется 15–30 мин.

Ход анализа. Берут на аналитических весах 0,5 г навески воздушно-сухой почвы, пропущенной через сито с диаметром ячеек 0,25 мм, помещают в плоскодонную коническую колбу на 100 мл из жаростойкого стекла или в небольшие колбы Къельдаля, смачивают дист. водой, приливают 8 мл конц. H_2SO_4 и 0,5–0,8 мл (около 50 %) HClO_4 , оставляют на 30–60 мин или на ночь.

После этого колбу закрывают маленькой воронкой, ставят на электрическую плитку, покрытую асбестом, и кипятят смесь при температуре выше 200°C до полного обесцвечивания раствора, после этого кипячение продолжают еще 5–10 мин.

В зависимости от химического состава анализируемой навески почвы цвет смеси после сжигания может быть белесый, сероватый, желтоватый, иногда с вкраплениями черных мелких частичек, возможно окислов тяжелых металлов, угля.

После сжигания смесь охлаждают, затем доливают 20–30 мл дист. водой и количественно полностью переносят через фильтр беззольный (белая лента) в

мерную колбу на 250 мл обмывая при этом воронку, горлышко и стенки колбы, где проводилось разложение навески. Раствор вновь охлаждают, доводят дист. водой до метки, перемешивают. В аликвоте прозрачного раствора осаждают железо по Уоррену и Пью и определяют фосфор колориметрически.

5.3. Колориметрический метод определения

Из колориметрических методов определения фосфора в растворе, полученном после плавления образца почвы и отделения кремнекислоты или после разложения образца смесью кислот, наиболее пригоден так называемый «фосфо-ванадиево-молибденовый», основанный на связывании фосфора в соответствующее комплексное соединение, окрашивающее раствор в ярко желтый цвет. Окраска приобретает максимальную интенсивность в 0,5 н растворе HNO_3 в течение нескольких минут и сохраняется несколько суток. Метод позволяет обнаруживать 0,05 мг P_2O_5 в 100 мл раствора. Пропорциональность между интенсивностью окраски и содержанием фосфора соблюдается до 5 мг P_2O_5 в 100 мл конечного раствора. Вместо азотной кислоты можно применять также хлорную. Конечная концентрация ванадата должна быть около 0,002 М, молибдата – примерно 0,01 М. При концентрации кислоты выше 0,75 н окраска развивается медленно. При концентрации же менее 0,2 н появляется желто-зеленая окраска и в отсутствие ионов ортофосфата.

Определению мешает присутствие в растворе серной и соляной кислот, а также меди и хрома. Допустимо присутствие до 10 мг – Ni, Co; до 20 мг – W, V, Ti, U и до 5 мг - мышьяка. Количества Si, Al, Mn, Mo, значительно превышающие содержание фосфора, не влияют на точность определения.

Ход анализа. Азотнокислый раствор, полученный после разрушения навески почвы, как смесью кислот, так и плавлением с содой, должен содержать азотную кислоту в концентрации, соответствующей 1 н раствору (пл. 1,032; 6,1%). Для этого в фарфоровую чашку после второго выпаривания приливается 50 мл 1 н раствора азотной кислоты. После полного растворения в ней осадка

солей раствор количественно переносится в мерную колбу емкостью 100 мл, куда добавляется также 10 мл ванадата аммония и 10 мл молибдата аммония. Колба оставляется на 5–10 минут для развития окраски. Раствор в ней доводится до метки 1 н раствором азотной кислоты и перемешивается. Светопоглощение изменяется при 450 нм.

Реактивы:

1. 1 н раствор азотной кислоты. 68 мл концентрированной кислоты разбавляется дистиллированной водой в литровой мерной колбе до метки.

2. Раствор ванадата аммония. 2,5 г ванадата аммония NH_4VO_3 растворяется в 500 мл кипящей дистиллированной воды. Полученный раствор охлаждается и в него добавляется 20 мл концентрированной азотной кислоты, охлаждается и доводится до 1 л.

3. Раствор молибдата аммония. Растворяется 10 г молибдата аммония в 100 мл дистиллированной воды при 50°C. Раствор охлаждается и фильтруется.

4. Стандартный раствор фосфата калия. Приготавливают раствор с содержанием фосфора концентрацией 0,1 мг/л

5.4. Озоление почвы хлорной кислотой

Навеску почвы сжигают в 30–72 % HClO_4 при температуре около 205°C. Время сжигания одного образца 1–4 ч. В полученном растворе после фильтрования осаждают трехвалентное железо по Уоррену и Пью и определяют фосфор колориметрически.

5.5. Объемный метод определения фосфора в почвах

Объемный метод является наименее трудоемким. Он применяется, когда содержание фосфора в образце почвы не ниже 0,2%, рекомендуется для массовых анализов.

Метод основан на допущении, что состав отмытого от примесей осадка

фосфоро-молибдата аммония соответствует формуле $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{MoO}_4$ и что в результате титрования этого соединения едким натром в присутствии фенолфталеина образуются нормальные соли молибденовой кислоты (R_2MoO_4) и двузамещенные соли ортофосфорной кислоты (R_2HPO_4).

Соотношение 1:23, как уже указывалось выше, соблюдается, если очень строго выдерживаются условия осаждения фосфоро-молибдата аммония. Осаждение должно проводиться в температурном диапазоне от 20 до 50°C. При этом изменять температуру после прибавления молибдата аммония нельзя. Эти условия отрабатывались на чистых растворах. В реальных же растворах всегда присутствует очень большое количество химических элементов, которые влияют на созревание осадка, его состав и, следовательно, на соотношение 1:23.

Точность определения существенно зависит также от:

1. Тщательности отмывания осадка от свободной кислоты, присутствие которой в недостаточно хорошо отмытом осадке завышает результаты определения.

2. Задержки начала титрования после растворения осадка фосфоро-молибдата аммония в измерительном растворе NaOH, так как при щелочной реакции создаются условия для выделения аммиака из состава соединений – продуктов реакции.

3. Возможностей поступления в измерительный раствор NaOH углекислоты, всегда содержащейся в воздухе лабораторного помещения.

4. От присутствия карбонат-ионов в растворе, на которые очень чувствительно реагирует фенолфталеин.

Ход анализа. Из раствора, полученного после плавления образца и отделения кремнекислоты или его разложения смесью кислот, фосфор осаждается в виде фосфоро-молибдата аммония. Для этого используется коническая колба емкостью 250 мл. Осаждение в этом случае проводится без подогрева, т.е. при температуре лабораторного помещения. Осадок вставляется для созревания до следующего дня.

По истечении суток отстоявшийся над осадком раствор фильтруется через небольшой плотный фильтр «синяя лента». Фильтрование осуществляется так, чтобы осадок по возможности оставался на дне колбы. Оставшийся осадок 5 раз промывается (порциями по 10 мл) непосредственно на дне колбы 1%-ным раствором HNO_3 (из промывалки), при этом отстоявшийся над осадком раствор полностью сливается на фильтр. Затем пятикратному промыванию уже 1%-ным раствором KNO_3 подвергается бумажный фильтр. Отмывание его струей из промывалки каждый раз начинается с верхней кромки, каждая следующая порция промывной жидкости подается на него после полного стекания предыдущей. На завершающем этапе отмывания фильтра с помощью индикаторной бумаги «Конго» проводится определение pH стекающей промывной жидкости. Как только реакция среды фильтрата сместится в слабокисло-нейтральный диапазон, отмывание фильтра прекращается.

Фильтр с частью осадка снимается с воронки и помещается в коническую колбу, в которой проводилось осаждение и в которой находится вторая часть осадка. Из бюретки в колбу с фильтром приливается 10 мл 0,1 н раствора NaOH . После этого колба немедленно закрывается пробкой, раствор с ней взбалтывается вращательными движениями до тех пор, пока осадок не растворится полностью. В случае если этого не произошло, колба открывается и в нее добавляется еще некоторое точно отмеренное количество щелочи и взбалтывание возобновляется.

После полного растворения осадка в колбу приливается 50-100 мл дистиллированной воды, не содержащей CO_2 , 5 капель 1%-ного раствора фенолфталеина, избыток щелочи оттитровывается 0,1 н раствором HNO_3 до появления розовой окраски.

Содержание фосфора вычисляется по формуле:

$$X = \frac{(V1 \cdot n1 - V2 \cdot n2) \cdot 0,309}{p \cdot 1000} \quad (10),$$

где X – содержание P_2O_5 в %;

V_1 – объем измерительного раствора NaOH, использовавшегося для растворения осадка фосфор-молибдат-аммония, мл;

n_1 – нормальность измерительного раствора NaOH;

V_2 - объем измерительного раствора HNO₃, потребовавшегося для оттитрования избытка измерительного раствора NaOH, мл;

n_2 – нормальность измерительного раствора HNO₃;

p – навеска почвы, г;

0,309 – мг-экв количество NaNH₄HPO₄ (в пересчете на P₂O₅), соответствующее 23 молекулам измерительного раствора NaOH, использовавшегося для растворения осадка фосфоро-молибдата аммония;

1000 – коэффициент для перевода миллиграммов в граммы.

Реактивы:

1. 1 н раствор NaOH. Поступающий в лаборатории едкий натр всегда содержит в качестве примесей хлориды, сульфаты, карбонаты и воду, поэтому использовать его непосредственно для приготовления измерительного раствора невозможно, так как измерительный раствор, как уже отмечалось выше, не должен содержать в качестве примеси соли угольной кислоты.

Раствор едкого натра, не содержащий карбонатов, готовится следующим способом. 100 г NaOH растворяется в 100 мл дистиллированной воды и помещается в колбу из устойчивого к действию щелочей стекла или другого материала. Колба плотно закрывается пробкой, обтянутой станиолом, оставляется на несколько дней. Карбонат натрия нерастворим в концентрированном растворе едкого натра и выпадает в виде суспензии на дно сосуда.

Для приготовления 1 л 0,1 н раствора с помощью пипетки отбирается около 6–7 мл отстоявшегося раствора, переносится в полиэтиленовую бутылку и быстро разбавляется до 1 л свежeproкипяченной и охлажденной дистиллированной водой. Бутылка закрывается пробкой с двумя отверстиями, в одно из которых вставлена предохранительная трубка с натронной известью или на тронным асбестом, во второе – сифонная трубка из устойчивого к действию щело-

чей материала, не доходящая до дна на 0,5 см. На противоположном ее конце должен быть кран, который открывается только во время отбора раствора. При частом пользовании измерительным раствором щелочи рекомендуется сборка стационарной титровальной установки, конструкция которой исключает его контакт с CO₂ воздуха.

Измерительный раствор едкого натра, свободный от карбонатов, может приготавливаться также путем прибавления к нему 3–5 мл 1%-ного раствора BaCl₂. Через 2–3 дня, по истечении которых образовавшийся осадок BaCO₃ полностью осядет, прозрачный раствор сливается с помощью сифона в полиэтиленовую бутылку или парафинированную склянку.

Нормальность приготовленного раствора устанавливается по щавелевой или бензойной кислоте.

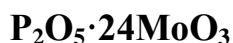
2. 0,1 н азотная кислота. 7 мл концентрированной кислоты (пл. 1,40) разбавляются до метки в мерной колбе емкостью 1 л. Нормальность устанавливается по титрованному раствору щелочи.

3. 1 %-ный раствор фенолфталеина. 1 г индикатора растворяется в 60 мл спирта и разбавляется водой до 100 мл.

4. 1 %-ный раствор HNO₃. 10,8 мл концентрированной кислоты доводится дистиллированной водой до 1 л.

5. 1 %-ный раствор KNO₃. 10 г соли растворяется в 990 мл дистиллированной воды.

5.6. Гравиметрическое определение фосфора в составе осадка



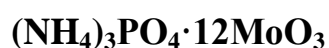
Применяется при малых содержаниях фосфора в почве. Фосфор осаждается в виде фосфоро-молибдата аммония. Полученный желтый осадок промывается, затем растворяется аммиаком. Полученный раствор выпаривается досуха, а затем прокаливается при температуре 400–425°C и взвешивается. Недостатком этого метода является, как уже указывалось, непостоянство состава

фосфоро-молибдата аммония. Однако при незначительном содержании фосфора относительная доля P_2O_5 в составе прокаленного осадка очень невелика. В результате непостоянство состава осадка фосфоро-молибдата аммония практически не отражается на результатах его определения.

Ход анализа. Из раствора, полученного после плавления образца и отделения кремнекислоты или его разложения смесью кислот, фосфор осаждается в виде фосфор-молибдата аммония, как указывалось выше. Осадок отфильтровывается через плотный фильтр «синяя лента» и промывается 1–2%-ным раствором азотной кислоты. Отмытый осадок растворяется на фильтре минимальным количеством разбавленного (1:1) аммиака. Фильтрат собирается в фарфоровый тигель подходящего размера, выпаривается досуха и прокаливается в муфельной печи при температуре 400–425 °С (до перехода окраски осадка из желтый в темно-синюю), охлаждается в эксикаторе и взвешивается.

Повышение температуры прокаливания недопустимо, так как это может привести к разложению осадка с потерей молибдена и занижению результатов определения. Прокаленный осадок практически не гигроскопичен, что облегчает взвешивание.

5.7. Гравиметрическое определение фосфора в составе осадка



Как и в предыдущем случае, фосфор из раствора, полученного после плавления образца и отделения кремнекислоты или его разложения смесью кислот, осаждается в виде фосфоро-молибдата аммония $(NH_4)_3PO_4 \cdot 12MoO_3$, как описано выше. Полученный осадок отфильтровывается, промывается и взвешивается.

Ход анализа. Осадок фосфоро-молибдата аммония отфильтровывается под разряжением через стеклянный тигель с пористым дном, промывается 1–2%-ным раствором HNO_3 до отрицательной реакции на железо (используется 5%-ный раствор роданида аммония или калия). Тигель с осадком высушивает-

ся в сушильном шкафу при температуре 110°C до постоянной массы. Осадок очень гигроскопичный, поэтому взвешивание требуется производить очень быстро. Первое взвешивание осуществляется только как подготовительное. При втором взвешивании ориентировочный отсчет на весах устанавливается заранее. Эксикатор заполняется эффективным высушивающим веществом. При высушивании осадок теряет воду и азотную кислоту, его состав приближается к $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{MoO}_3$.

Гравиметрический фактор для расчета содержания P_2O_5 равен 0,0378, для расчета содержания P–0,0165.

6. Определение содержания фосфора в растениях методом мокрого озоления

Принцип метода. Метод основан на озолении органического вещества при нагревании с концентрированной серной кислотой в присутствии концентрированной перекиси водорода. Данный способ озоления можно так же использовать при определении азота по методу Кьельдаля или калия фотометрическим методом.

Ход анализа. На аналитических весах взять навеску анализируемого вещества 0,1-0,2 г (с точностью до 0,001 г) и перенести в коническую колбу на 50 мл. Из бюретки прилить 2 мл конц. H_2SO_4 . Перемешать круговыми движениями, стараясь, чтобы смесь меньше попала на стенки колбы. Раствор в колбе потемнеет (произойдет обугливание растительного материала). Из бюретки прилить 1–2 мл 30 % H_2O_2 и сразу колбу накрыть стеклянной воронкой, при этом начинается бурная реакция, в результате которой навеска полностью растворяется в H_2SO_4 , а содержимое колбы становится бесцветным (иногда слабоокрашенным).

После окончания вскипания колбу с раствором поставить на заранее нагретую электрическую плитку, прикрытую асбестовой сеткой, и нагреть до побурения жидкости и выделения белых паров. Колбу снять с плитки, охладить и

добавить 1–2 капли H_2O_2 (раствор обесцветится). Если раствор в колбе сильно окрашен, можно добавить 3–5 капель. Снова нагреть колбу на плитке. Если при выделении белых паров жидкость опять побуреет, то снова добавить H_2O_2 .

Сжигание считается окончанным, когда при интенсивном выделении белых паров жидкость остается бесцветной. Для определения полноты озоления колбу поместить на плитку на 5–7 минут. Если раствор потемнеет, то после охлаждения добавить 1–2 капель H_2O_2 и озоление повторить. Колбу охладить, содержимое количественно перенести в мерную колбу на 100 мл. Довести объем раствора в колбе до риски дист. водой, закрыть колбу и перемешать.

Озоление при использовании дигестора. Если для мокрого озоления используется дигестор, то рекомендуется следующий ход работы. В колбы для дигестии насыпают по 0,2 г растительного материала, добавляют 12 мл конц. H_2SO_4 и 3 мл 30 % H_2O_2 . После установки колб дигестора и подключения дигестора к коллектору (или сукубберу), рекомендуется нагревать содержимое 20 минут – при 300°C , и постепенно нагревать до $400\text{--}450^\circ\text{C}$ и выдерживать при данной температуре 60 минут, с последующим самостоятельным охлаждением колб. Если озоление прошло не до конца (раствор должен быть прозрачным, почти бесцветным), то доливают еще 3 мл 30 % H_2O_2 и повторяют дигестию, выдерживая при температуре $400\text{--}450^\circ\text{C}$ – 30 мин. Озоленный раствор нужно полностью перенести в мерную колбу на 100 мл и довести объем дист. водой до метки.

Определение фосфора. Пипеткой взять 2 мл раствора из колбы с мокрой золой и перенести в мерную колбу на 50 мл. Для нейтрализации H_2SO_4 в колбу прилить из бюретки 2 мл 2,5 % раствора NaOH . Приливают в мерную колбу 5 мл молибденовой смеси (1 часть 10 % раствора молибденовокислого аммония, плюс 3 части 50 % раствора H_2SO_4) и взбалтывают. Затем добавляют 8 капель свежеприготовленного раствора SnCl_2 (хлористого олова), взбалтывают, доводят до метки дист. водой, еще взбалтывают и оставляют на 5 мин для развития окраски.

Колориметрируют на спектрофотомере используя красный светофильтр (длина волны 670 нм). Приготовление шкалы образцовых растворов: Образцовый раствор KH_2PO_4 содержащий 0,003 мг P_2O_5 мл. В мерные колбы на 50 мл прилить 2, 5, 10, 15, 20 мл образцового раствора. Налить в колбы до «плечиков» дист. воды, перемешать. Добавить 2 мл реактива по Труогу, три капли раствора SnCl_2 , Объем раствора в колбах довести до риски дист. водой, закрыть колбы пробками и перемешать. Через 5 минут измерить оптическую плотность растворов.

Построить калибровочный график, на котором по оси ординат отложить количество мл образцового раствора, а по оси абсцисс – значения оптической плотности. Содержание фосфора вычисляют по формуле

$$X = \frac{a \cdot 0,03 \cdot 100 \cdot 100}{p \cdot 2 \cdot 1000} \quad (11),$$

где X – содержание P_2O_5 в %;

a – отчет по калибровочному графику, мл;

p – навеска, г;

100 – коэффициент вычисления в процентах;

100 – количество мокрой золы, мл;

1000 – коэффициент перевода г в мг;

0,003 – концентрация образцового раствора, мг/мл.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Копосов Г. Ф. Определение содержания азота в почвах: методическое пособие для студентов и аспирантов. – Казань: Казанский государственный университет, 2006. – 69 с.

2. Копосов Г. Ф. Определение в почвах содержания фосфора: учебное пособие. – Казань: Казанский государственный университет, 2009. – 72 с.

3. Мудрых Н. М. Пособие к лабораторным занятиям по агрохимии Методическое пособие для студентов специальности (направления) 110201.65 «Агрономия», 110202.65 «Плодоовощеводство и виноградарство», 110203.65 «Защита растений», 110400.62 «Агрономия» / Н. М. Мудрых, М. А. Алёшин. – Пермь: Изд-во Пермского ГСХА, 2011. – 51 с.