

УДК 631.416.1 : 631.445

ФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ АЗОТА В ТОРФЯНЫХ ПОЧВАХ

Н.Н. Семенов, доктор сельскохозяйственных наук

С.И. Жмачинская, агрохимик

Е. В. Каранкевич, аспирант

РУП «Институт мелиорации»

Ключевые слова: азот, содержание, торфяные почвы, концентрация раствора, рабочая шкала

Введение

Азот в торфяных почвах в основном представлен органическими соединениями и частично минеральными: нитратными, нитритными и аммонийными формами. Процессы трансформации соединений азота в почве под влиянием антропогенных факторов (мелиорация, сельскохозяйственное использование, применение удобрений и др.) протекают постоянно. Для оценки почвообразовательного процесса и прогноза обеспеченности растений азотом наряду с минеральными формами важное значение имеет определение легко- и трудногидролизуемых соединений азота. Для их извлечения из почв применяют кислотный или щелочной гидролиз (методы Бремнера, 1965; Воробьева в модификации Шконде и Королевой, 1975; Турчина, 1965 [1-3]).

Для агрохимической оценки состава азота почвы наиболее приемлемым является метод Шконде и Королевой [1], позволяющий объективно судить о качественных и количественных изменениях азотного фонда почвы, а также извлечь из нее фракции азота, различные по степени доступности растениям: минеральные, легко-, трудно- и негидролизуемые соединения азота. По соотношению этих фракций также судят о подвижности азотного фонда почв.

В результате применения метода двухступенчатого кислотного гидролиза общий азот разделяется на структурные части и следующие фракции:

1. Минеральный – азот нитратов, нитритов и обменного аммония;
2. Легкогидролизуемый – амиды, часть аминов, часть необменного аммония;
3. Трудногидролизуемый – часть аминов, амиды, необменный аммоний, часть гуминов;
4. Негидролизуемый – большая часть аминов, гумины, меланины, битумы, остаток необменного аммония.

Однако следует обратить внимание на следующее: метод Шконде и Королевой разработан для минеральных, прежде всего, подзолистых и дерново-подзолистых почв.

Применение данного метода для определения содержания азота в торфяных почвах не представляется возможным, поскольку при узком (1:5) соотношении почвы к экстрагенту (H_2SO_4) данные почвы плохо смачиваются. Поэтому точное количественное содержание фракций легко-, трудно-, а значит и негидролизующих соединений азота в этих почвах по методу Шконде и Королевой определить невозможно. Кроме того, отгон аммиака легко- и трудногидролизующих соединений из фильтратов суспензии по Кьельдалю производят в сильнощелочной среде при кипячении. Это приводит к дополнительному отщеплению аммония из органического вещества почвы и искажению результатов определения азота в торфяных почвах.

Цель исследования – разработать условия проведения анализа торфяных почв разных стадий эволюции, позволяющие эффективно выделять легко- и трудногидролизующие соединения азота из этих почв.

В результате проведенных исследований разработаны новые способы определения легко- и трудногидролизующих соединений азота в торфяных почвах разных стадий эволюции, которые изложены ниже.

1. Определение легкогидролизующих соединений азота

Метод основан на фотоколориметрическом определении аммония в виде окрашенного зеленого индофенольного соединения, образующегося в щелочной среде при взаимодействии с гипохлоритом и салицилатом натрия.

1.1. Аппаратура, материалы и реактивы

Фотоэлектроколориметр.

Банки бытовые по ГОСТ 5717-70 или другие емкости из материала, устойчивого к действию применяемых реактивов.

Кассеты десятипозиционные под технологические емкости.

Дозаторы на 2,5 см³. Погрешность дозирования не более 1%.

Дозатор на 45 см³ для дозирования рабочего окрашивающего реактива. Погрешность дозирования не более 1 %.

Посуда мерная лабораторная стеклянная по ГОСТ 4.318—85: колбы вместимостью 250, 1000 см³, бюретка вместимостью 50 см³, цилиндры мерные вместимостью 500 и 1000 см³.

Вода дистиллированная – по ГОСТ 6709—72, проверенная на отсутствие загрязнения аммонием.

Аммоний хлористый по ГОСТ 3773—72, х. ч.

Натрия гидрат окиси по ГОСТ 4328—77, ч. д. а.

Натрий салициловокислый по ГОСТ 17628—72, ч.

Калий-натрий виннокислый по ГОСТ 5845—79, ч.

Этилендиамин-N, N, N', N'—тетрауксусной кислоты динатриевая соль, 2-водная (трилон Б) по ГОСТ 10652—73, ч. д. а.

Известь хлорная по ГОСТ 1692—85.

Натрий углекислый безводный по ГОСТ 83—79, х. ч. или ч. д. а.

Кислота соляная по ГОСТ 3118—77, х. ч. или ч. д. а.

Калий йодистый по ГОСТ 4223—75, х. ч.

Натрий серноватистокислый, 5-водный (фиксанал) по ГОСТ 4215—66.

Натрий нитропруссидный по ГОСТ 4224—76, х. ч., ч. д. а. или ч.

1.2. Подготовка к анализу

1.2.1. Приготовление экстрагирующего раствора (0,25М раствора серной кислоты)

14 см³ концентрированной (уд. вес 1,84) серной кислоты помещают в мерную колбу емкостью 1000 см³ и добавляют дистиллированную воду, доводя объем до метки.

1.2.2. Приготовление запасного окрашивающего раствора:

56,7 г салициловокислого натрия, 16,7 г калия-натрия виннокислого (сегнетова соль) и 30,3 г гидроокиси натрия, взвешенных с погрешностью не более 0,1 г, помещают в стакан из термостойкого стекла вместимостью 1000 см³, растворяют в 700 см³ дистиллированной воды и кипятят в течение 20 мин для удаления аммиака. После охлаждения раствор переносят в мерную колбу вместимостью 1000 см³, добавляют 0,4 г нитропруссидного натрия, взвешенного с погрешностью не более 0,01 г, и после полного растворения навески доводят дистиллированной водой объем раствора до метки.

Раствор хранят в холодильнике в склянке оранжевого стекла с притертой пробкой не более 2 месяцев.

1.2.2.1. Приготовление рабочего окрашивающего раствора:

Запасной окрашивающий раствор разбавляют дистиллированной водой в соотношении 1:9 и растворяют в нем трилон Б из расчета 2 г на 1000 см³ конечного раствора.

Раствор готовят в день проведения анализа.

1.2.3. Приготовление раствора серноватистокислого натрия ($Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$) концентрации 0,1 моль/дм³ (0,1 н.):

Готовят по СТ СЭВ 3675-82 или из стандарт-титра.

1.2.4. Приготовление запасного раствора гипохлорита натрия:

150 г хлорной извести взвешивают с погрешностью не более 0,1 г, помещают в химический стакан вместимостью 1000 см³, прибавляют 250 см³ дистиллированной воды и перемешивают.

105 г углекислого натрия взвешивают с погрешностью не более 0,1 г, помещают в другой химический стакан вместимостью 500 см³ и растворяют в 250 см³ дистиллированной воды.

Раствор углекислого натрия вливают в раствор хлорной извести при непрерывном перемешивании. Полученную смесь оставляют на 1-2 суток для отстаивания, затем надосадочную жидкость сливают и фильтруют. В полученном растворе гипохлорита натрия определяют концентрацию активного хлора титрованием. Для этого в коническую

колбу вместимостью 100 см³ отбирают 1 см³ приготовленного раствора и разбавляют дистиллированной водой до объема 40-50 см³. Прибавляют 2 г йодистого калия, взвешенного с погрешностью не более 0,1 г, и 10 см³ раствора соляной кислоты концентрации 1 моль/дм³. Образовавшийся йод титруют раствором серноватистокислото натрия до исчезновения вишневой окраски.

Массовую долю активного хлора (x) в процентах в запасном растворе гипохлорита натрия вычисляют по формуле:

$$X = 0,00355 \cdot V \cdot 100,$$

где 0,00355-количество хлора, соответствующее 1 см³ раствора серноватистокислото натрия концентрации 0,1 моль/дм³,г;

V – объем раствора серноватистокислото натрия концентрации 0,1 моль/дм³, израсходованный на титрование, см³;

100-коэффициент пересчета в проценты.

Концентрацию раствора проверяют по п.1.1.2.2.4. не реже одного раза в 3 месяца. Полученный реактив имеет концентрацию активного хлора около 6-10%.

Раствор хранят в холодильнике в склянке оранжевого стекла с притертой пробкой не более 1 года.

1.2.4.1. Приготовление рабочего раствора гипохлорита натрия с массовой долей 0,2%

Запасной раствор гипохлорита натрия, приготовленный по п. 1.1.2.2.4., разбавляют дистиллированной водой до заданной концентрации в день проведения анализа.

Пример: при концентрации хлора в запасном растворе 7,1 % для получения 100 см³ 0,2 %-ного раствора гипохлорита натрия следует взять 2,8 см³ запасного раствора: $x = 0,2 \cdot 100 / 7,1 = 2,8 \text{ см}^3$.

1.2.5. Приготовление образцовых растворов азота аммония

1.2.5.1. Приготовление исходного образцового раствора

0,955 г хлористого аммония, высушенного при температуре 100-105°С до постоянной массы, взвешивают с погрешностью не более 0,001г, помещают в мерную колбу вместимостью 1000см³ и растворяют в дистиллированной воде, доводя объем до метки. Полученный раствор содержит 0,25 мг азота в одном см³. Раствор хранят в склянке с притертой пробкой в холодильнике не более 1 месяца.

1.2.5.2. Приготовление шкалы образцовых растворов

В мерные колбы вместимостью 250 см³ помещают указанные в таблице 1 объемы раствора, приготовленные по п. 1.2.5.1, добавляют по 100 см³ 0,25 М раствора серной кислоты, доводят объем до метки дистиллированной воды, перемешивают.

Растворы сравнения используют для градуировки фотоэлектроколориметра в день проведения анализа. Окрашивание растворов сравнения проводят аналогично окрашиванию анализируемых вытяжек и одновременно с ними.

Таблица 1 – Шкала образцовых растворов

Показатели	Номер раствора сравнения							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Объем исходного образцового раствора, приготовленного по п. 1.2.5.1, см ³	0	1,0	2,5	5	10	20	30	40
Концентрация азота аммония: в растворе сравнения, мг/дм ³ ; в пересчете на почву, мг/кг.	0	1,0	2,5	5	10	20	30	40
	0	50	125	250	500	1000	1500	2000

1.3. Получение вытяжки из почвы

В коническую колбу емкостью 200-250 см³ помещают 5 г просеянный через сито с диаметром ячеек 2 мм воздушно-сухой почвы, добавляют 100 см³ 0,25M H₂SO₄ и закрывают стеклянной воронкой или обратным холодильником. Гидролиз проводят в течении 3 часов на электрической плитке с закрытой спиралью. Следят за равномерным кипением содержимого колб. Затем суспензию отфильтровывают в мерную колбу на 250 см³. Почву на фильтре промывают малыми порциями горячей воды. Затем общий объем фильтрата доводят дистиллированной водой до метки и перемешивают. Параллельно проводят холостое определение для оценки чистоты реактивов.

1.4. Проведение анализа

Для анализа используют фильтраты вытяжек, приготовленных по п.1.3. В мерные колбы емкостью 50 см³ отбирают по 1 см³ фильтратов и растворов сравнения, приливают по 45 см³ рабочего окрашивающего раствора, приготовленного по п.1.2.2.1 и по 2 см³ рабочего раствора гипохлорита натрия с массовой долей 0,2%, приготовленного по п.1.2.4.1. Общий объем растворов в колбе доводят до метки дистиллированной водой. Растворы в колбах перемешивают после каждого добавления реагентов. Окрашенные растворы не ранее чем через час и не позже чем через 2,5 часа после прибавления раствора гипохлорита натрия фотометрируют в кювете с толщиной просвечиваемого слоя 10-30 мм относительно раствора сравнения № 1 при длине волны 670 нм. Растворы сравнения фотометрируют в тех же кюветах, что и растворы анализируемых вытяжек. Допускается пропорциональное изменение объемов проб анализируемых вытяжек, растворов сравнения и растворов реагентов при погрешности дозирования не более 1%.

1.5. Обработка результатов

По результатам фотометрирования растворов сравнения массовую долю азота аммония в анализируемой почве определяют с помощью персонального компьютера путем расчета зависимости показаний прибора (оптическая плотность растворов) от концентрации определяемых стандартных растворов азота, описываемой соответствующими уравнениями регрессии: $y = ax \pm b$, где:

y – содержание легкогидролизуемых соединений азота в мг на 1 кг почвы;

x – величина отсчета на приборе оптической плотности испытуемых растворов;

«а» и «в» – параметры линейного уравнения, устанавливаемые компьютером.

Для этого в программе EXCEL строится точечная диаграмма. В электронную таблицу заносятся данные по оси «х» – показания прибора оптической плотности исследуемых стандартных растворов, из которых предварительно вычитают результат холостого опыта, а по оси «у» – соответствующее им содержание (концентрация) азота в почве, мг/кг (см. табл. 1). Затем к полученной кривой добавляют линию тренда, определяют уравнение регрессии и величину достоверности аппроксимации (R^2). Для определения содержания азота в почве в полученное уравнение вместо «х» подставляют значения показаний прибора оптической плотности испытуемых растворов, из которых также предварительно вычитают результат холостого опыта.

Применимость уравнения для определения содержания легкогидролизующихся соединений азота в исследуемых почвах в пределах от 100 до 1600 мг/кг почвы при (R^2) $\geq 0,8$.

За результат анализа принимают значение единичного определения азота аммония. Результат анализа выражают в мг на 1 кг почвы с округлением до целого числа или в процентах. Допускаемое отклонение от среднего арифметического при повторных анализах проб почв составляет 10%.

Примеры расчета результатов определения содержания легкогидролизующихся соединений азота в почвах приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Примеры расчета содержания в почвах легко- и трудногидролизующихся соединений азота

Почва	Содержание органического вещества, %	Азот легкогидролизующийся		Азот трудногидролизующийся	
		оптическая плотность раствора (отсчет на приборе)	содержание азота в почве, мг/кг	оптическая плотность раствора (отсчет на приборе)	содержание азота в почве, мг/кг
Торфяная неосушенная (заповедник)	83,7	0,658	1441	0,734	5950
Торфяная осушенная, 50 лет в культуре, пашня (бывший среднемошной торфяник)	82,5	0,652	1429	0,733	6067
Торфяно-минеральная, 50 лет в культуре, пашня (бывший маломощный торфяник)	39,8	0,567	1248	0,632	5149
Минеральная остаточно-торфяная, пашня, в культуре 48 лет (бывший маломощный торфяник)	19,7	0,241	545	0,352	2866
Минеральная остаточно-торфяная, пашня, в культуре 45 лет (бывшая торфяно-глеевая)	10,8	0,171	408	0,198	1639
Минеральная постторфяная, пашня, в культуре 45 лет (бывшая торфянисто-глеевая)	4,8	0,076	160	0,112	1048

2. Определение трудногидролизующихся соединений азота

2.1. Аппаратура, материалы и реактивы с п.п. 1.1

2.2. Подготовка к анализу

2.2.1.1. Приготовление экстрагирующего раствора (2,5М раствора серной кислоты)

140 см³ концентрированной (уд. вес 1,84) серной кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 1000 см³ и приливают дистиллированную воду, доводя объем до метки.

2.2.2. *Приготовление запасного и рабочего окрашивающих растворов, запасного и рабочего растворов гипохлорита натрия проводят в соответствии с п.п. 1.2.2. и 1.2.4.*

2.2.3. *Приготовление образцовых растворов азота аммония*

2.2.3.1. *Приготовление исходного образцового раствора*

0,955 г хлористого аммония, высушенного при температуре 100-105°С до постоянной массы, взвешивают с погрешностью не более 0,001 г, помещают в мерную колбу вместимостью 1000 см³ и растворяют в дистиллированной воде, доводя объем до метки. Полученный раствор содержит 0,25 мг азота в 1 см³. Раствор хранят в склянке с притертой пробкой в холодильнике не более 1 месяца.

2.2.3.1.1. *Приготовление шкалы образцовых растворов*

В мерные колбы вместимостью 250 см³ помещают указанные в таблице 3 объемы раствора, приготовленные по п. 1.2.3.1, добавляют по 100 см³ 2,5 М раствора серной кислоты и доводят объемы до меток дистиллированной водой, содержимое колб перемешивают.

Таблица 3 – Шкала образцовых растворов

Показатели	Номер раствора сравнения						
	1	2	3	4	5	6	7
Объем исходного образцового раствора, приготовленного по п. 2.2.3.1, см ³	0	5	10	20	30	50	70
Концентрация азота аммония: в растворе сравнения, мг/дм ³ ; в пересчете на почву, мг/кг.	0	5	10	20	30	50	70
	0	500	1000	2000	3000	5000	7000

Растворы сравнения используют для градуировки фотоэлектроколориметра в день проведения анализа. Окрашивание растворов сравнения проводят аналогично окрашиванию анализируемых вытяжек и одновременно с ними.

2.3. *Получение вытяжки из почвы*

В коническую колбу емкостью 200-250 см³ помещают 5 г воздушно-сухой почвы, просеянной через сито с диаметром ячеек 2 мм, добавляют 100 см³ 2,5 М H₂SO₄ и закрывают стеклянной воронкой или обратным холодильником. Гидролиз проводят в течении 3 часов на электрической плитке с закрытой спиралью. Следят за равномерным кипением содержимого колб. После охлаждения суспензию отфильтровывают в мерную колбу на 250 см³. Почву на фильтре промывают малыми порциями горячей воды. Затем общий объем фильтрата доводят дистиллированной водой до метки и перемешивают. Параллельно проводят холостое определение для оценки чистых реактивов.

2.4. *Проведение анализа*

Для анализа используют фильтраты вытяжек, приготовленных по п. 1.3. В мерные колбы емкостью 50 см³ отбирают по 0,5 см³ фильтратов и растворов сравнения, прибав-

ляют по 45 см³ рабочего окрашивающего раствора, приготовленного по п. 1.2.2.1. и по 2 см³ рабочего раствора гипохлорита натрия с массовой долей 0,2%, приготовленного по п. 1.2.4.1. Общий объем растворов в колбе доводят до метки дистиллированной водой. Раствор перемешивают после каждого добавления реагентов. Окрашенные растворы не ранее чем через час и не позже чем через 2,5 часа после прибавления раствора гипохлорита натрия фотометрируют в кювете с толщиной просвечиваемого слоя 10-30 мм относительно раствора сравнения №1 при длине волны 670 нм. Растворы сравнения фотометрируют в тех же кюветах, что и растворы анализируемых вытяжек.

2.5. Обработка результатов

По результатам фотометрирования растворов сравнения массовую долю азота аммония в анализируемой почве определяют с помощью персонального компьютера путем расчета зависимости показаний прибора (оптическая плотность растворов) от концентрации определяемых стандартных растворов азота, описываемой соответствующим уравнением регрессии: $y = ax \pm b$, где:

y – содержание трудногидролизующихся соединений азота в мг на 1 кг почвы;

x – величина отсчета на приборе оптической плотности испытуемых растворов;

«а» и «b» – параметры линейного уравнения, устанавливаемые компьютером.

Для этого в программе EXCEL строится точечная диаграмма. В электронную таблицу заносятся данные по оси «х» – показания прибора оптической плотности исследуемых стандартных растворов, из которых предварительно вычитают результат холостого опыта, а по оси «у» – соответствующее им содержание (концентрация) азота в почве, мг/кг (см. табл. 2). Затем к полученной кривой добавляют линию тренда, определяют уравнение регрессии и величину достоверности аппроксимации (R^2). Для определения содержания азота в почве в полученное уравнение вместо «х» подставляют значения показаний прибора оптической плотности испытуемых растворов, из которых также предварительно вычитают результат холостого опыта.

Применимость уравнения для определения содержания трудногидролизующихся соединений азота в исследуемых почвах в пределах от 500 до 7000 мг/кг почвы при (R^2) $\geq 0,8$.

За результат анализа принимают значение единичного определения азота аммония. Результат анализа выражают в мг на 1 кг почвы с округлением до целого числа или в процентах. Допускаемое отклонение от среднего арифметического при повторных анализах проб почв составляет 10%.

Примеры расчета результатов определения содержания трудногидролизующихся соединений азота в почвах приведены в таблице 2.

В связи с тем, что при определении разных форм азота каждый раз берут новую навеску почвы, то при расчетах легкогидролизующего азота из азота гидролизата (0,5M H₂SO₄) вычитают содержание минерального азота. При расчетах содержания в

почве трудногидролизующих форм азота из азота гидролизата (5M H₂SO₄) вычитают содержание минерального и легкогидролизующего азота.

Выводы

Таким образом, поставленная задача решается тем, что предложен способ определения содержания легко- и трудногидролизующих соединений азота в антропогенно-преобразованных торфяных почвах, включающий взятие навески образца почвы, приготовление 0,25 M или 2,5 M раствора серной кислоты в качестве экстрагента, получение гидролизата из суспензии при соотношении почва/экстрагирующий раствор 1:20 и гидролизе в течение 3-х часов при равномерном кипячении на электрической плитке с закрытой спиралью, отфильтровывание суспензии с последующей промывкой почвы на фильтре малыми порциями горячей дистиллированной водой, измерение концентрации азота в фильтрате с использованием фотометрического метода при длине волны фильтра 670 нм и обработку результатов фотометрирования с помощью персонального компьютера.

Литература

1. Шконде, Э.И. Определение фракционного состава азота в почвах / Э.И. Шконде, И.Е. Королева // Агрохимические методы исследования почв. – М.: Наука, 1975. – С. 94-95.
2. Турчин, Ф.В. Методы определения соединений азота в почве // Ф.В. Турчин // Агрохимические методы исследования почв. – М.: Наука, 1975. – С. 63-105.
3. Bremner, J.M. In "Methods of Soil Analysis. 2. Chemical and Microbiological Properties". C.A. Black et al. (Eds.) Madison, Amer. Soc. Agron., Inc., 1965.
4. Семеновко, Н.Н. Методы определения содержания доступных растениям соединений азота, фосфора и калия в деградированных торфяных почвах / Н.Н. Семеновко, В.А. Журавлев, С.Е. Головатый – Минск: РУП «Институт мелиорации и луговодства Национальной академии наук Беларуси», 2005. – с. 24.

Summary

Semenenko N.N., Zhmachinskaya S.I., Karankevich E.V.

PHOTOMETRIC METHOD FOR DETERMINING THE CONTENT OF ORGANIC NITROGEN COMPOUNDS IN THE PEAT SOILS

It is shown the method of photometric determination of organic nitrogen compounds in peat and anthropogenically transformed peat soils at various stages of evolution. It is set the the method for analyzing soil samples for the maintenance of light and hard hydrolysable nitrogen compounds using as extractant 0,25 M and 2,5 M sulfuric acid.

Поступила 30 января 2012 г.