

МЕТОДЫ АНАЛИЗА РАСТЕНИЙ

Значение анализа растений. Химический анализ растений – один из основных приемов агрохимического анализа, без которого невозможно решить многие вопросы агрохимии. Начиная с 40-х годов XIX в. анализ растений стал входить как обязательный прием агрохимических исследований в практику производственных и научных агрохимических лабораторий. Многие методы агрохимического анализа признаны классическими и остаются до настоящего времени без изменений. Незначительные изменения коснулись лишь формы и объема химической посуды, использования катализаторов, совершенствования измерительных приборов и сопровождающего анализ оборудования.

Однако в последние пятьдесят лет появилось много методик, нового оборудования и приборов, позволяющих определять в растениях микроэлементы, тяжелые металлы, органические соединения, радионуклиды, остаточные количества пестицидов и другие соединения. Анализ растений в агрохимических исследованиях применяют:

- для изучения влияния почвы и удобрений на биохимические процессы, протекающие в растении в период питания;
- для определения биологического и хозяйственного выноса элементов питания почвы и удобрений, установления коэффициентов использования питательных элементов;
- для оценки качества растениеводческой и овощеводческой продукции;
- для установления питательной ценности растительных кормов;
- в целях растительной диагностики питания растений и установления доз удобрений, вносимых в качестве основного удобрения и в виде подкормок.

При изучении влияния видов, доз, форм, сроков и способов внесения удобрений на урожайность сельскохозяйственных культур выявить их позитивное или негативное действие без анализа растений, проводимого в процессе вегетации, не представляется возможным. Анализ растений показывает, как и в каком количестве происходило изменение элементов питания по фазам развития, в отдельные периоды роста или времени года. При выборе оптимальных соотношений элементов питания в растениях всегда происходит увеличение их в сравнении с вариантом без удобрений. Известкование кислых дерново-подзолистых почв также увеличивает содержание основных элементов питания почти во все фазы развития растений. Установлено, что если разница в содержании элементов питания в растениях контрольного варианта и варианта с удобрениями невелика или отсутствует, это свидетельствует о высоком и достаточном количестве элементов в почве или о том, что усвоения элементов питания удобрений по каким-то причинам не происходило. Последнее отмечается в неблагоприятные по метеорологическим условиям годы, т. е. при отсутствии осадков в весенне-летний период, повышенной температуре воздуха и др. Питательные элементы удобрений могут не поступать в растения при мелкой или слишком глубокой заделке удобрений.

Основными органическими соединениями, характеризующими качество

растениеводческой и овощеводческой продукции, являются белок, жир, сахара, крахмал, клетчатка, витамины, органические кислоты, эфирные масла, алкалоиды, глюкозиды и др. Органические вещества накапливаются в семенах, плодах, листьях, стеблях, корнеплодах, клубнях и других органах растений (табл. 1). Содержание их может меняться в широких пределах в зависимости от вида, сорта растений, почвенно-климатических условий, минерального питания. Минеральные и органические удобрения — один из основных факторов, влияющих на процессы биосинтеза органических веществ в растениях.

**Таблица 1. Средний химический состав урожая сельскохозяйственных культур, %
(по Б. П. Плешкову)**

Культура	Вода	Белки	Сырой протеин	Жиры	Крахмал и др. углеводы (кроме клетчатки)	Клетчатка	Зола
Пшеница (зерно)	12	14	16	2,0	65	2,5	1,8
Рожь (зерно)	14	12	13	2,0	68	2,3	1,6
Ячмень (зерно)	13	9	10	2,2	65	5,5	3,0
Овес (зерно)	13	11	12	4,2	55	10,0	3,5
Кукуруза (зерно)	15	9	10	4,7	66	2,0	1,5
Гречиха (зерно)	13	9	11	2,8	62	8,8	2,0
Горох (зерно)	13	20	23	1,5	53	5,4	2,5
Фасоль (зерно)	13	18	20	1,2	58	4,0	3,0
Соя (зерно)	11	29	34	16	27	7,0	3,5
Подсолнечник (ядра)	8	22	25	50	7	5,0	3,5
Лен (семена)	8	23	26	35	16	8,0	4,9
Картофель (клубни)	78	1,3	2,0	0,1	17	0,8	1,0
Сахарная свекла (корнеплоды)	75	1,0	1,6	0,2	19	1,4	0,8
Кормовая свекла (корнеплоды)	87	0,8	1,5	0,1	9	0,9	0,9
Морковь (корнеплоды)	86	0,7	1,3	0,2	9	1,1	0,9
Лук репчатый	85	2,5	3,0	0,1	8	0,8	0,7
Клевер (зеленая масса)	75	3,0	3,6	0,8	10	6,0	3,0
Ежа сборная (зеленая масса)	70	3,1	3,0	1,2	10	10,5	2,9

Общепринятым методом определения белка в растениях является метод

Барнштейна, жира – по Сокслету, сахара – по Бертрону или поляриметрически, крахмала – поляриметрически или объемным методом, сырой клетчатки – по Геннебергу и Штоману, клейковины – путем отмучивания.

В настоящее время кроме стандартных химических методов определения качества сельскохозяйственной продукции широко используют инструментальные методы: спектрофотометры, хроматографы, аминокислотные анализаторы и др.

Подробное описание методик определения элементов питания, органических соединений в растениях изложено в Агрохимия: лабораторный практикум/ под ред И.Р. Вильдфлуша.– Минск: ИВЦ Минфина, 2020, Методические указания кафедры агрохимии УО БГСХА по анализу растений и кормов, учебных пособиях А. В. Петербургского «Практикум по агрономической химии», Б. П. Плешкова «Практикум по биохимии растений», А. С. Радова и др. «Практикум по агрохимии», Б. А. Ягодина «Практикум по агрохимии».

Биосинтез белков и других азотистых веществ проходит более интенсивно при усилении азотного и фосфорного питания. При рациональном использовании азотных удобрений (доз, форм, сроков и способов внесения) содержание белка в зерне зерновых культур может повышаться на 0,5—3,0 %. Селекционеры ежегодно испытывают сотни новых сортов сельскохозяйственных культур, десятки признаются перспективными и внедряются в производство. Без детального анализа качества новых сортов на содержание белка и других органических веществ их внедрение в производство не разрешено. Новые сорта должны быть высокоурожайными и соответствовать принятым стандартам качества.

Для полной оценки качества белка зерновых культур требуется определение аминокислотного состава его, отдельных групп свободных аминокислот и содержания незаменимых кислот.

Повышенное калийное и фосфорное питание резко усиливает биосинтез и накопление углеводов в овощных культурах, жиров — в масличных.

Основные методы анализа растений

Методы химического анализа растений в агрохимии подразделяют на следующие основные группы: 1) методы анализа зольных элементов; 2) методы определения различных форм азотистых соединений (белковый, небелковый, аммиачный, амидный, аминный, азот различных аминокислот); 3) методы определения общего фосфора и различных форм соединений (кислоторастворимый минеральный, органический липидов и фосфатидов, фосфор белковых и нуклеиновых кислот); 4) методы определения органических соединений (белки, жиры, углеводы, витамины, алкалоиды, эфирные масла и др.).

В практических целях и научно-исследовательской работе агрохимии наиболее часто определяют из зольных элементов фосфор, калий, магний,

кальций; из азотистых соединений общий, белковый и нитратный азот. Редко определяют различные формы фосфорных соединений, ограничиваясь определением общего фосфора.

Содержание тех или иных органических соединений зависит от вида растений, а внутри вида от сорта, условий выращивания и минерального питания. Для зерновых культур основным органическим соединением является белок, для картофеля — крахмал, свеклы — сахар, капусты — витамины, сахар и т. д. Разнообразие этих и других органических соединений в растениях не обязывает агрохимика определять их в полном объеме в получаемой растениеводческой и овощеводческой продукции. Для определения азота, зольных элементов органических веществ используют свежий и сухой растительный материал.

Подготовка и озоление растительного материала

Подготовка заключается в проведении следующих основных операций: 1) взятие первоначальной пробы сырой массы в поле или хранилищах, сухой сыпучей продукции (зерно, семена, комбикорма и др.) во время перевозки к заготовительным пунктам и в период хранения; 2) высушивание образцов; 3) измельчение; 4) взятие аналитической навески; 5) хранение анализируемого материала.

Отбор образцов зерновых и зернобобовых культур

При ожидаемом урожае зерна меньше 20 кг с делянки пробы его отбирают в мешок, закрепляемый на транспорте-элеваторе комбайна с помощью специального устройства.

Зерно с каждой делянки собирают в отдельный мешок с этикеткой. Чтобы исключить перемешивание зерна с двух делянок, необходимо после уборки его с каждой делянки остановить комбайн и дополнительно проработать на "холостом ходу" 3 – 4 мин и только после этого снять и взвесить мешок с зерном. Если ожидаемый урожай с делянки больше 20 кг и комбайн не оборудован приспособлением для отбора проб, их отбирают либо из мешков после уборки, либо во время выгрузки зерна из бункера комбайна. При отборе во время выгрузки под струю высыпаемого зерна через равные промежутки времени не менее двух раз подставляют мешок с этикеткой и берут необходимое количество зерна. С каждой делянки (из каждого мешка) для оценки качества урожая и определения влажности при уборке отбирают горстями или совком из мешка соответственно по 1,5 – 2,0 и 0,3 – 0,5 кг зерна.

Средние образцы соломы отбирают горстями в матерчатые мешочки – 10 горстей из разных мест возможно большего числа копен на делянке.

Масса образца 0,3 – 0,5 кг.

Аналитическую пробу воздушно-сухого вещества массой 0,2 – 0,3 кг для сыпучих материалов (зерно и др.) берут специальным прибором – делителем. Если его нет, то необходимую массу аналитической пробы

отбирают методом крестообразного деления. Для этого исходный образец высыпают на ровную поверхность, перемешивают и укладывают в виде квадрата слоем 1,5 см для мелкосемянных культур и до 5 см для крупносемянных. Затем при помощи линейки массу делят по диагонали на четыре равных треугольника, с двух противоположных треугольников зерно удаляют, оставшуюся массу уменьшают тем же методом до 0,2 – 0,3 кг. Аналитическую пробу семян перед анализом очищают от посторонних включений – комочков земли, соломы, семян сорняков, комочков головни, подсушивают в термостате при температуре не выше 65°C и размалывают на мельнице типа Пируэт. Если зерно твердое (ячмень, овес, зерновые, бобовые, кукуруза), его предварительно грубо дробят на дисковых или молотковых мельницах, а затем домалывают на мельницах типа Пируэт или др. Для различных видов анализов требуется неодинаковая тонина помола анализируемого материала, однако целесообразно всю аналитическую пробу размолоть до 0,5 – 1 мм. При размоле периодически отсеивают мелкие частицы, проходящие через сито с размером 1 мм, оставшиеся на сите частицы домалывают на той же мельнице. Частицы, проходящие через сито, не отбрасывают, а присоединяют к размолотой массе. Пробу перемешивают и помещают в коробку с этикеткой.

При взятии навесок для химических анализов аналитическую пробу тщательно перемешивают, чтобы исключить расслоение частиц по размерам.

Отбор и подготовка к анализу образцов картофеля, кормовых корнеплодов

Средние образцы картофеля отбирают в фазе отмирания и увядания ботвы за 1 – 2 дня до или во время уборки. По диагонали делянки выкапывают 10 растений, расположенных на равном расстоянии друг от друга. Клубни отряхивают от земли, отделяют от столонов и сортируют на стандартные и нестандартные.

Для среднего образца массой около 2 кг отбирают из стандартного картофеля не менее 20 клубней. Ботву отобранных растений измельчают на куски 1 – 2 см, перемешивают и отбирают средний образец массой 0,5 кг. Образец высушивают до воздушно-сухого состояния, предварительно взяв из него навеску для определения влажности.

Образцы кормовых корнеплодов (турнепса, брюквы, кормовой свеклы, кормовой моркови) отбирают за 2 – 3 дня до уборки. Выкапывают 10 типичных растений, расположенных на равных расстояниях друг от друга по диагонали делянки. В образец не должны входить цветущие растения, поврежденные механически или болезнями и вредителями. Выкопанные корнеплоды очищают от земли, обрезают с них нижние корешки и хвостики. Ботву обрезают одинаково по всем вариантам опыта у основания черешков листьев. После перемешивания отбирают средний образец 0,5 кг. Образцы корнеплодов и листьев немедленно отправляют в лабораторию на анализ. Во время транспортировки их предохраняют от высыхания и увлажнения.

Для определения крахмала в картофеле, каротина и некоторых других показателей в кормовых корнеплодах используют только свежие образцы естественной влажности. Корни или клубни моют щеткой и вытирают или слегка подсушивают на воздухе. У корнеплодов обрезают головку, тонкий конец корня и боковые корешки. У клубней картофеля удаляют остатки столонов.

Каждый корень или клубень разрезают по долевой оси через центр пополам, на четыре или восемь частей в зависимости от размера. Затем отбирают по одной части каждого корня или клубня и составляют аналитическую пробу массой не менее 0,5 кг. Несимметричные корни разрезают так, чтобы каждая половина состояла из наиболее толстой и наиболее тонкой частей, так как распределение содержания веществ (например, сахара) в корне неравномерно по его радиусу; если на анализ берут сегменты меньше половины корня или клубня, то их должно быть четное число и они должны быть расположены один против другого. Корнеплоды разрезают на мелкие куски вручную или на измельчителе, а затем пропускают через мясорубку или мезгообразователь. Измельченную массу пробы помещают в эмалированные емкости или стеклянные кристаллизаторы и до взятия навесок накрывают крышками или часовыми стеклами.

Средние образцы сахарной свеклы для оценки качества урожая берут за 2 – 3 дня до уборки растений. Для этого протягивают шнур по диагонали делянки и по линии шнура выкапывают подряд по пять растений с каждого ряда. Всего с каждой делянки выкапывают 20 растений. При квадратно-гнездовом размещении растений в образец отбирают все растения из гнезда.

Выкопанные растения очищают от земли тупой стороной ножа или щетками, обрезают боковые корешки и хвостики диаметром менее 1 см, взвешивают все растения (корни и ботву), а затем – корни с точностью до 0,1 кг (массу ботвы определяют по разности). Листья в пробах обрезают так, как принято при уборке всего урожая свеклы. При уборке урожая свеклоуборочным комбайном образцы берут из бункера или бурта. Из срезанной грубоизмельченной ботвы отбирают средний образец массой до 1 кг методом крестообразного деления. Анализ образца корней сахарной свеклы проводят в день отбора или не позднее чем через сутки.

Относительно сухую свеклу перед измельчением на терке очищают от земли капроновыми щетками, а влажную – сухой тканью. Если корни очень грязные, их моют и протирают фильтровальной бумагой. Для анализа из корней вырезают (выстругивают) сектор, обязательно достигающий до сердцевины корня. Сектор вырезают диском терки на свободной от корневых волосков стороне по всей длине корня от головки до хвостика. После измельчения каждого образца коробку, в которую собирают мезгу, тщательно очищают от остатков и вытирают сначала влажной, а затем сухой тряпкой. Мезгу тщательно перемешивают в эмалированном или оцинкованном тазу или противне до получения однородной по цвету массы, после чего берут из 5 – 6 мест среднюю аналитическую пробу массой около

0,5 кг, кладут в чашку, накрывают стеклом и направляют на анализ.

Отбор и подготовка к анализу кормовых культур

Однолетние и многолетние травы и травосмеси на сенокосах, а также посевы яровой и озимой вики, сои, сорго, кормового гороха скашивают со всей учетной площади делянок и взвешивают. Образцы берут во все укосы каждого года пользования, чтобы учесть вынос питательных элементов урожаем. С каждой делянки сразу же после скашивания берут из 15 – 20 точек по одному пробному снопу (около 1 кг), составленному из отдельных пучков растений. Образцы каждого укоса и всех повторений анализируют отдельно, результаты анализа подвергают статистической обработке. В этих же образцах определяют влажность зеленой массы и урожай сена приводят к 16%-ной влажности.

На пастбищах образцы трав для анализов берут перед началом каждого стравливания. Для отбора образцов трав выделяют каждый раз на новом загоне четыре площадки по 0,25 м², отмечают их на плане поля. Траву с этих площадок срезают ножницами или серпом на высоте 5 – 6 см для высокотравных пастбищ и 3 – 4 см для низкорослых. Далее поступают так же, как с образцами трав с сенокосов.

Средние образцы кукурузы можно отобрать в различной фазе спелости. Если при уборке кукурузы мало початков мелочно-восковой спелости (5 – 10% от общей массы), то для анализа берут смешанный образец, в который входят листья, стебли и початки пропорционально содержанию в урожае. По диагонали делянки на равных расстояниях друг от друга срезают 10 растений. Разделяют початки и стебли с листьями, измельчают на куски в 2 – 3 см и после тщательного перемешивания составляют средний образец массой 1 кг, соблюдая между фракциями ту пропорцию, в какой они были в исходном образце.

Если кукурузу убирают в более поздней фазе созревания, то число среднесмешанных образцов удваивается, так как отбирают отдельно образец из початков полной, восковой и молочно-восковой спелости и образец из листьев стеблей и початков, не достигших молочно-восковой спелости. Масса каждого образца 1 кг. Образцы составляют исходя из соотношения этих частей в урожае. Для этого каждую часть растения взвешивают, общую суммарную массу принимают за 100% и вычисляют процентное соотношение фракции.

Из предварительно грубоизмельченных на соломорезке или хлеборезке образцов сена, ботвы, стержней початков кукурузы отбирают аналитические пробы массой около 2 кг. Аналитическую пробу подсушивают и размалывают до тонины 1 мм.

Озоление растительного вещества. Определение азота и зольных элементов. При определении азота и зольных элементов в растениях можно использовать как свежий, так и высушенный материал. Озоление осуществляют двумя способами:

– сухим способом при высокой температуре. После сухого озоления азот не определяют;

– мокрым способом, в основном концентрированными кислотами:

1. H_2SO_4 (температура кипения $338\text{ }^\circ\text{C}$);
2. Смесью HNO_3 и H_2SO_4 (температура кипения $120,5\text{ }^\circ\text{C}$);
3. $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$;
4. $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{HClO}_4$ (по К.Е.Гинзбург);
5. $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}_2$ в присутствии селена.

Сухое озоление проводят при определении в золе фосфора, калия, кальция, магния, железа, алюминия, кремния, марганца и некоторых тяжелых металлов.

При определении в золе фосфора, калия и натрия озоление проводят с большой осторожностью, не допуская высокой температуры в муфельной печи. При температуре свыше $500\text{ }^\circ\text{C}$ фосфорная кислота с углем может восстанавливаться до свободного фосфора, а калий и натрий в форме хлоридов — улетучиваться.

Преимущество сухого озоления состоит в том, что не требуется использование концентрированных кислот и солей.

Навеску измельченного на мельнице материала (в среднем $1\text{—}3\text{ г}$) неплотно укладывают в просушенный и взвешенный тигель и накрывают крышкой. На первой стадии сжигание в вытяжном шкафу проводят при температуре примерно $180\text{ }^\circ\text{C}$, а после прекращения выделения продуктов перегонки, по истечении 30 мин, приоткрыв крышку, тигель ставят в муфельную печь до полного озоления. Оптимальной температурой считается $400\text{—}500\text{ }^\circ\text{C}$. Иногда при длительном прокаливании зола сохраняет темный цвет. Это происходит потому, что соли золы обволакивают частицы угля и задерживают сжигание. В таком случае после охлаждения тигля к золе приливают $10\text{—}15$ капель воды или $5\text{—}6$ капель 30%-ного пероксида водорода. При слабом подогревании выпаривают жидкость и продолжают сжигание до получения светлой золы. После озоления тигель прикрывают крышкой, охлаждают в эксикаторе и взвешивают.

Для ускорения озоления и предотвращения потерь фосфора к анализируемой навеске рекомендуют прибавлять в небольших количествах ацетат кальция, оксид кальция, оксид магния, ацетат магния и др. В результате сухого озоления получают так называемую «сырую» золу. Сырой золу называют потому, что в ней остается небольшое количество углистых частиц. При сухом озолении органического вещества кальций, магний, калий, натрий образуют карбонаты, а фосфор — однозамещенный фосфат кальция.

Озоление растений мокрым способом. Мокрое озоление более универсально, так как улетучивание фосфорной кислоты и других элементов почти исключено. Прежде чем установить нужные кислоты, их объемы и концентрации, химики проделали большое количество экспериментальных исследований. Подбирали кислоты, оптимальные температуры при озолении, катализаторы, соотношения навески и кислот, посуду и, наконец, методы определения элементов после озоления. Наиболее старыми являются методы

Меркера и Неймана. Меркер предложил вести озоление концентрированной H_2SO_4 с добавлением по каплям HNO_3 , а Нейман — смесью H_2SO_4 и HNO_3 , взятых в равных объемах. Однако и в том и другом случае происходили потери фосфора. В начале XX в. в Петербургской сельскохозяйственной химической лаборатории и лаборатории Всероссийского общества сахарозаводчиков также использовали H_2SO_4 и HNO_3 в разных соотношениях.

А. Н. Лебединцев сравнил все существующие методы, выявил условия, при которых возможна потеря фосфора в процессе озоления, и предложил свой метод. В полученной золе можно определить P, K, Ca, Mg, Na, Fe, Mn, Al. А. Н. Лебединцев предложил навеску вначале обрабатывать азотной кислотой удельной массой 1,41, или 68%-ной. На 2—3 г вещества ее берут 10—15 мл, после выпаривания добавляют еще 2—4 мл. После осветления прибавляют на 1 г вещества 1 мл концентрированной серной кислоты удельной массой 1,84. По мере испарения азотную кислоту добавляют по 1—1,5 мл.

Наиболее точные результаты при ускоренном озолении получают при озолении растительного материала по К. Е. Гинзбургу, который предложил для сжигания использовать концентрированную серную кислоту удельной массой 1,84 и 60%-ную хлорную кислоту (5 мл H_2SO_4 + 0,4 мл HClO_4) для сжигания одной навески (0,1—0,2 г). После прибавления смеси кислот колбы оставляют на 30—60 мин, затем проводят слабое нагревание в течение 5—7 мин до образования однородной коричнево-бурой массы. После этого температуру повышают и озоление продолжают до полного обесцвечивания, которое наступает примерно через 15—25 мин. Если озоления не произошло, то необходимо добавить еще 1—2 капли HClO_4 и продолжить его.

При определении общего и белкового азота широко используют сжигание по Кьельдалю. Методу присвоен ГОСТ 10846—64, и он считается наиболее надежным, так как потери азота при сжигании исключены. Этот метод был предложен в 1883 г. и считается классическим. По Кьельдалю навеску 0,5—2,0 г переносят в кьельдалевские колбы для озоления разного объема — от 50 до 750 мл и заливают в зависимости от массы навески 10—25 мл крепкой H_2SO_4 удельной массой 1,84. Колбу нагревают до обугливания навески. Так как озоление навески происходит медленно, для ускорения озоления применяют катализаторы: Гунина — металлическую ртуть или медь и K_2SO_4 для повышения температуры кипения; Шедда — Na_2SO_4 ; Клеемана — H_2O_2 ; Шерера — селен в порошке и т. д. Однако основа осталась, она заключается в переводе всего азота навески в аммиак. При использовании катализатора и температуры 300 °C сжигание заканчивается за 5—8 ч.

Химические реакции при сжигании сложны. Их можно представить лишь схематически. Серная кислота при нагревании в присутствии органических веществ распадается на оксид серы, воду и кислород:



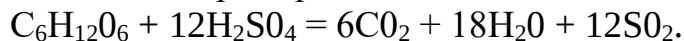
Кислород, обладающий высокой окислительной способностью, окисляет углерод и водород органических веществ:



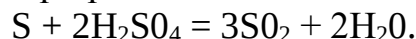
Под влиянием серной кислоты белок распадается на аминокислоты.

Получившиеся при этом диоксид углерода, оксид серы и вода улетучиваются, а аммиак связывается серной кислотой, которую для изоляции берут в небольшом избытке:

Безазотистые органические вещества также разрушаются с образованием диоксида углерода и воды, например:



Освобождающаяся сера при распаде белка окисляется:



Определение азота

Определение азота методом ВИУА

Прибор ВИУА состоит из трех частей: отгоночной колбы цилиндрической формы с воронкой, приемника и поглотителя газов из атмосферы.

Ход анализа. Навеску анализируемого вещества 0,2 г сжигают по одному из методов и переносят в мерную колбу на 250 см³.

Для определения азота пипеткой отмеряют 5 или 10 см³ вытяжки (в зависимости от содержания азота в анализируемом веществе) и переносят в отгоночную колбу прибора. Предварительно подготавливают приемник, для чего в него наливают 10 см³ 2%-ного Н₃ВО₃ (реактив 1) с реактивом Гроака (реактив 4), раствор окрашен в фиолетовый цвет. Затем собирают прибор с анализируемым раствором, помещают в водяную баню, в притертую горловину колбы вставляют приемник, который соединяют с водоструйным насосом. Через воронку, впаянную сбоку цилиндрической колбы, в колбу приливают 5 см³ 40%-ного раствора NaOH (реактив 2) и плотно закрывают пробкой с поглотителем концентрированной Н₂SO₄. Открывают краник, соединяющий приемник с водоструйным насосом, и начинают отгонку аммиака при доведении воды в бане до +80...90°C. Длительность отгонки – до 1 ч. При отгонке раствор в приемнике окрашивается в зеленый цвет. По окончании отгонки содержимое в приемнике титруют 0,01 н. раствором Н₂SO₄ (реактив 3) до первоначального фиолетового цвета (обратное титрование).

Вычисление результатов производят по формуле:

$$X = \frac{a \cdot T \cdot 0,14 \cdot 100}{b} \cdot K,$$

где X – содержание азота, %; а – количество 0,01 н. Н₂SO₄, пошедшей на титрование; Т – поправка к титру 0,01 н. Н₂SO₄; 0,14 – количество азота, соответствующее 1 см³ 0,01 н. Н₂SO₄, мг; б – навеска анализируемого вещества, соответствующая объему вытяжки, взятой для титрования, мг; К – коэффициент пересчета на сухое вещество.

$$K = \frac{100}{100 - y}, \text{ где } y - \text{содержание влаги, \%}.$$

Определение азота, фосфора и калия из одной навески растительного материала

Значение анализа. Определение азота, фосфора и калия из одной навески растительного материала имеет преимущества перед определением каждого элемента отдельно, так как при этом сокращается время анализа, расход материалов и реактивов.

Азот

Принцип метода. Определение азота в растворе после мокрого озоления основано на использовании фотоколориметрического метода, при котором ион аммония окисляется хлором до хлорамина, образуя с салицилатом натрия окрашенное индофенольное соединение (индофенольная зелень) с максимумом светопоглощения при длине волны около 655 нм.

Ход анализа. 0,5 см³ исследуемого раствора (полученного при озолении растительного материала) переносят пипеткой с резиновой грушей в стакан на 100 см³, приливают 47 см³ рабочего окрашенного раствора, перемешивают, прибавляют пипеткой по 2,5 см³ 0,125%-ного рабочего раствора гипохлорита натрия, снова перемешивают и оставляют на 1 ч при комнатной температуре для полного развития окраски. Одновременно проводят холостое определение. Оптическую плотность окрашенных растворов измеряют при длине волны 655 нм, используя кювету с толщиной просвечиваемого слоя 10 мм. Содержание азота определяют по градуировочному графику, построенному по результатам фотометрирования образцовых растворов шкалы, и пересчитывают в проценты на воздушно-сухое вещество, учитывая массу навески. Содержание азота (%) рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{(a - b) \cdot 100}{n},$$

где *a* – количество азота, определяемого по графику, мг/100 см³ анализируемого раствора; *b* – количество азота, определяемого по графику, мг/100 см³ холостого раствора; *n* – навеска, мг.

За результат принимают среднее из двух определений; допустимое расхождение между параллельными определениями – 5 отн. %.

Фосфор

Принцип метода. Определение фосфора основано на способности ортофосфорной кислоты в присутствии ванадия образовывать желтое комплексное соединение с молибдат-ионами $\text{H}_3\text{PO}_4 \cdot \text{HNO}_3 \cdot 11\text{MO}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$. Максимум светопоглощения наблюдается в ультрафиолетовой части спектра при 315 нм. Определение проводят в области 460 – 500 нм, используя синий светофильтр. Окраска устойчива 48 ч.

Ход анализа. Для определения фосфора из растворов, полученных при озолении растительного материала, пипеткой с резиновым баллончиком отбирают по 25 см³ и переносят в стаканы на 50 см³. Прибавляют 15 см³

реагируемой смеси, перемешивают палочкой и через 1 ч проводят измерение оптической плотности на фотоколориметре, используя синий светофильтр, кювету с толщиной просвечиваемого слоя 20 – 30 мм. Раствором сравнения служит нулевой раствор шкалы. Одновременно проводят холостое определение. Содержание фосфора определяют по градуировочному графику, построенному по результатам фотометрирования образцовых растворов шкалы, и пересчитывают в проценты на воздушно-сухое вещество по формуле:

$$X = \frac{(a - b) \cdot 100}{n},$$

где а – количество фосфора, определяемого по графику в анализируемом растворе, мг/100 см³; в – количество фосфора, определяемое по графику в холостом растворе, мг/100 см³ раствора; n – навеска, мг; 100 – коэффициент перевода в проценты.

За результат анализа принимают среднее из двух определений, допустимое расхождение между параллельными – 5 отн. %.

Калий

Принцип метода. Пламенно-фотометрическое определение калия основано на зависимости между интенсивностью излучения в пламени возбуждаемого элемента и концентрацией его в растворе. При определении калия используют спектральные линии 76,65 и 76,99 нм. Оптимальное содержание калия в кормах – 0,7 – 1,0% на сухое вещество.

Ход анализа. Для определения калия на пламенном фотометре образцовые растворы шкалы и исходные растворы озолотов берут без разбавления. Одновременно проводят холостое определение. Допустимо использование пламени: пропан – бутан – воздух; сетевой газ – воздух; бензин – воздух. По окончании фотометрирования строят градуировочный график, на который по оси абсцисс откладывают содержание К₂О в мг/100 см³ раствора, на оси ординат – показания гальванометра. Содержание К₂О (%) рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{(a - b) \cdot 100}{n},$$

где а – количество К₂О, определяемое по графику, мг/100 см³ анализируемого раствора; в – количество К₂О, определяемое по графику, мг/100 см³ холостого раствора; n – навеска, мг; 100 – коэффициент пересчета в проценты.

За результат принимают среднее из двух определений; допустимые расхождения между параллельными – 7 отн. %.

Определение кальция и магния методом атомно-абсорбционной спектрометрии

. Кальций и магний являются важнейшими питательными элементами для растений. Эти элементы входят в состав золы и в значительной мере определяют ее качество. Кальций усиливает процесс фотосинтеза и

передвижение углеводов. Магний входит в состав хлорофилла, что определяет его роль в жизни растений.

При содержании кальция в количестве 1,01 – 1,15% и магния 0,25% (в расчете на сухое вещество) корм оценивается как оптимальный по этим показателям.

Принцип метода. Атомно-абсорбционный метод отличается от традиционных аналитических методов универсальностью, простотой выполнения анализа и высокой производительностью. Он обеспечивает предел обнаружения многих элементов порядка 0,1 – 0,01 мкг/мл и ниже. В настоящее время этим методом можно определять более 70 химических элементов в различных объектах.

Атомно-абсорбционный спектральный анализ основан на использовании способности атомов определяемых элементов селективно поглощать резонансное излучение определенной для каждого элемента длины волны. Для измерения поглощения анализируемый раствор в виде аэрозоля вводят в пламя горелки, где происходит испарение растворителя, плавление и испарение пробы, термическая диссоциация молекул и образование свободных атомов. Большинство образующихся при этом атомов находится в нормальном, невозбужденном состоянии, они могут поглощать излучение внешнего стандартного источника света, если энергия кванта соответствует энергии перехода атома с нижнего энергетического состояния на более высокий уровень. В качестве источника излучения чаще всего используется лампа с полым катодом из одного или нескольких определяемых элементов.

Световой поток от лампы пропускают через пламя горелки и монохроматор. Далее измеряют поглощение света атомами исследуемого элемента. Выходящий световой поток регистрируют фотоэлектрическим детектором. Сигнал с детектора усиливается с помощью усилителя, регистрируется гальванометром или ленточным самописцем. Метод применим для анализа зольного раствора элементов в воздушно-ацетиленовом пламени. Влияние мешающих элементов устраняют добавлением в анализируемые растворы солей стронция.

Сухое озоление и приготовление испытуемого раствора. Навеску воздушно-сухого образца корма массой 2,5 г берут с погрешностью не более 0,01 г и помещают в фарфоровый тигель. Во избежание потерь с выделяющимися при сжигании газами и для обеспечения притока воздуха к пробе навеску укладывают рыхло (объем не должен превышать половины тигля).

Тигель с навеской помещают в холодный муфель, который, не закрывая полностью дверцу, нагревают до появления дыма, после чего печь отключают до полного прекращения его выделения. Если при вторичном включении сжигаемый материал продолжает дымиться, муфель снова отключают. При таком режиме озоления температура в муфеле не поднимается выше 473 – 523 К, а постепенное нагревание обеспечивает спокойное сжигание без потерь. Отсутствие частичек угля и равномерный цвет золы указывают на полное озоление материала.

Если в золе, несмотря на длительное сжигание, остаются обугленные частицы, то охлажденную золу смачивают несколькими каплями воды, приливают 1 см³ концентрированной азотной кислоты, выпаривают досуха на песчаной бане и дожигают в муфеле.

Золу после сухого озоления смачивают несколькими каплями бидистиллированной воды, приливают 2 см³ 20%-ной соляной кислоты и ставят на песчаную баню до полного выпаривания. Сухой осадок растворяют в 1 см³ 20%-ной соляной кислоты.

Солянокислый раствор золы переносят через воронку с беззольным фильтром в мерную колбу на 25 см³ и доводят до метки.

Ход анализа. В химические стаканы на 100 см³ помещают по 5 см³ раствора золы, приливают дозатором по 45 см³ рабочего раствора хлористого стронция (для устранения влияния мешающих элементов) и перемешивают. Полученные растворы вводят в пламя горелки атомно-абсорбционного спектрофотометра и измеряют оптическую плотность. Содержание кальция и магния в анализируемых пробах находят по градуировочному графику. Из полученных результатов вычитают результат холостого опыта, проведенного через все стадии анализа, кроме взятия навески корма. Если содержание кальция и магния слишком велико и выходит за пределы графика, определение повторяют, предварительно разбавив раствор золы 0,06 н. раствором HCl. Найденное затем по графику содержание элемента увеличивают во столько раз, во сколько был разбавлен раствор золы.

Вычисление результатов. Содержание кальция и магния в анализируемом материале (%) рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{100 \cdot (a - b)}{n},$$

где X – содержание кальция и магния, %; a – содержание кальция или магния в 100 см³ анализируемого раствора, найденное по графику, мг; b – содержание кальция или магния в 100 см³ холостого раствора, найденное по графику, мг; n — навеска корма, мг; 100 – коэффициент пересчета в проценты.

За результат анализа принимают среднее значение из двух определений; допустимое расхождение между двумя параллельными определениями – 10%.

Анализ растительных кормов

В рационе животных 95 % занимают растительные корма, качество которых зависит от вида растения, условий произрастания, применяемых удобрений, переработки и хранения. Питательные вещества растений обеспечивают жизнедеятельность животных, в результате которой человек получает животноводческую продукцию: мясо, жиры, молоко, шерсть и др. Взаимосвязи природных объектов: растение — животное — продукция являются звеньями сложной биологической цепи превращения и круговорота химических веществ. Использование кормов без химического анализа может привести к их перерасходу, несбалансированному содержанию элементов и органических соединений в них, неполному удовлетворению потребности

животных в необходимом количестве этих веществ.

При определении питательной ценности кормов проводят химический анализ на содержание сырого белка (протеина), аминокислот, растворимых углеводов, жиров, масла, безазотистых экстрактивных веществ, клетчатки, сырой золы, кальция, магния, фосфора, витаминов, микроэлементов, нитратов, сухого вещества.

Методы анализов растительных кормов, овощеводческой и растениеводческой продукции, употребляемой человеком и животными, едины. Принципы определения органических веществ, химических элементов одинаковы и в тех и в других случаях. Наиболее распространенными методами являются: определение общего азота по Кьельдалю, белкового азота по Барнштейну, клетчатки по Геннебергу и Штоману, сырого жира по Сокслету, каротина из бензиновой вытяжки колориметрически, хлорофилла из спиртовой вытяжки колориметрически, определение сухого вещества весовым методом, зольности после сухого озоления; фосфора, калия, магния, кальция после сухого или мокрого озоления.

Фосфор в растворе определяют колориметрически, в качестве красителя используют молибдат аммония в присутствии хлорида олова или с ванадомолибденом. Кальций в растворе после озоления определяют комплексонометрически с флуорексоном, на пламенном фотометре, атомно-абсорбционным и объемным оксалатным методом. Магний в растворе определяют на пламенном фотометре, атомно-абсорбционным и оксалатно-весовым методом.

Определение аминокислот в растительных кормах проводят на аминокислотных анализаторах, при помощи ионообменной хроматографии; нитраты определяют колориметрически с дисульфо- феноловой кислотой или сульфаниловой кислотой с альфа-нафти- ламином (по Луне—Гриссу), ионоселективным и другими методами; витамин С (аскорбиновая кислота) — объемным методом с 2,6-дихлорфенолиндофенолятом натрия по Мурри; микроэлементы — на атомно-абсорбционных спектрофотометрах.

Для сельскохозяйственных предприятий и фермерских хозяйств анализ кормов проводят в лабораториях проектно-изыскательских станций химизации сельского хозяйства, которые имеются в каждой области. Лаборатории оснащены современным оборудованием, приборами, реактивами, что позволяет проводить анализы в больших количествах и с высокой точностью.

Анализы, не требующие дорогостоящих приборов и оборудования, такие как определение каротина, клетчатки, сухого вещества, нитратов и некоторых других органических соединений, могут проводиться в условиях хозяйства. На агрохимическую службу возлагается также определение качества кормов, получаемых при проведении специальных опытов с удобрениями.

Систематический контроль за качеством растениеводческой продукции в опытах, а также в общих посевах позволяет агрохимической службе

составлять таблицы химического состава и питательной ценности кормов. Исследования показали, что питательная ценность кормов даже внутри одного административного района, в одних почвенно-климатических условиях бывает разной.

Определение сырого протеина в растениях

Понятие "сырой протеин" ("сырой белок") включает в себя общее содержание азота в растениях или их органах, умноженное на коэффициент перевода азота в белок.

В состав сырого протеина входят белки и небелковые формы азота: пептиды, аминокислоты, амиды, органические азотсодержащие гетероциклы, неорганические и органические соли аммония, нитраты. Небелковые формы азота, за исключением солей аммония и нитратов, входящих в состав сырого протеина, являются усвояемыми формами азота для животных и человека и не снижают питательной ценности грубых и сочных кормов, а также некоторых других сельскохозяйственных культур (картофеля, овощных, кукурузы, гороха и др.). В связи с этим при оценке пищевой ценности грубых и сочных кормов нет необходимости выделять белок и определять его содержание.

Для оценки кормовой ценности сена, силоса, ботвы, клубней картофеля, корнеплодов и некоторых других фуражных культур достаточно определить общее содержание азота и перевести его в сырой протеин. Качество корма по содержанию сырого протеина оценивается по 20-балльной шкале: при содержании 15% и более (в пересчете на сухое вещество) – 20 баллов, 12,7 – 14,9 – 16 баллов и т.д. Каждая кормовая единица корма должна быть обеспечена 100 г переваримого протеина. Корма, содержащие в одной кормовой единице менее 100 г, относятся к имеющим недостаточную протеиновую питательность, а содержащие более 100 г протеина – с высокой протеиновой питательностью.

Принцип метода. Растительное вещество озоляют при температуре 338°C в серной кислоте с перекисью водорода в присутствии катализатора – селена. Выделившийся из органических соединений и связанный с серной кислотой аммиак вытесняют щелочью и отгоняют паром в приемник, где он связывается борной кислотой. Поглощенный борной кислотой аммиак учитывают титрованием 0,01 н. раствором серной кислоты. По количеству связанного титрованным раствором серной кислоты аммиака рассчитывают содержание азота в исследуемом растительном материале. Результаты содержания общего азота используют для определения сырого протеина и количества небелкового азота по разности между общим и белковым азотом.

Ход анализа. На аналитических весах при помощи конической пробирки берут навеску 0,15 – 0,2 г воздушно-сухого тонкоизмельченного или 2 – 3 г свежего грубоизмельченного растительного материала и помещают в колбу Кьельдаля. Одновременно берут навеску растительного материала в тарированную стеклянную бюксу для определения гигроскопической влаги и

сухого вещества.

В колбу Кьельдаля со взятой навеской исследуемого вещества приливают 5 – 10 см³ концентрированной серной кислоты (плотность 1,84 г/см³) с растворенным в ней селеном и, слегка перемешав содержимое колбы, оставляют для взаимодействия серной кислоты и растительного вещества на 5 – 6 ч. Затем в колбу приливают 1 – 2 см³ 33%-ной Н₂О₂, устанавливают колбу в газовую установку для озоления, нагревают до кипения и слабо кипятят до полного обесцвечивания раствора.

После озоления растительного материала приступают к определению азота в растворе озолота одним из двух способов – микрометодом с помощью прибора ВИУА или макрометодом Кьельдаля.

При определении азота микрометодом ВИУА к охлажденному раствору озолота в колбе осторожно приливают 3 – 5 см³ дистиллированной воды и содержимое перемешивают. Раствор сильно разогревается. Колбу охлаждают, а затем через воронку раствор золы без потерь переносят в мерную колбу на 250 см³. Колбу Кьельдаля многократно (4 – 5 раз) ополаскивают, тщательно промывая из промывалки горло колбы небольшим количеством дистиллированной воды, сливая промывные воды через воронку в ту же мерную колбу. Затем раствор доводят дистиллированной водой до метки и перемешивают. Для определения азота пипеткой отмеряют 5 или 10 см³ вытяжки (в зависимости от содержания азота в анализируемом веществе) и переносят в отгоночную колбу прибора. Предварительно подготавливают приемник, для чего в него вливают 10 см³ 2%-ной Н₃ВО₃ с реактивом Гроака. Раствор окрашен в фиолетовый цвет. Затем собирают прибор: колбу с анализируемым раствором помещают в водяную баню, в притертую горловину колбы вставляют приемник, который соединяют с водоструйным насосом. Через воронку, впаянную сбоку цилиндрической колбы, приливают 5 см³ 40%-ного NaOH и плотно закрывают пробкой с поглотителем – концентрированной Н₂SO₄. Открывают краник, соединяющий приемник с водоструйным насосом, и начинают отгонку аммиака при доведении воды в бане до +80 – 90°С. Длительность отгонки – до 1 ч. При отгонке раствор в приемнике окрашивается в зеленый цвет. По окончании отгонки содержимое в приемнике титруют 0,01 н. раствором Н₂SO₄ до первоначального фиолетового цвета (обратное титрование).

При определении азота макрометодом Кьельдаля анализ проводят в аппарате для макроопределения азота. Аппарат состоит из отгоночной колбы, соединенной через каучуковую пробку и каплеуловитель с холодильником, приемника, газовых горелок или парообразователя.

В раствор золы в колбе Кьельдаля осторожно вливают немного дистиллированной воды, охлаждают под краном с холодной водой и переносят раствор в отгоночную колбу емкостью 500 – 800 см³. Колбу Кьельдаля многократно ополаскивают дистиллированной водой, сливая ее каждый раз в отгонную колбу. Доводят раствор в отгонной колбе дистиллированной водой до объема 200 – 250 см³ и добавляют 4 – 5 капель фенолфталеина. Затем готовят приемник. В коническую колбу емкостью

около 250 см³ приливают 20 – 30 см³ 4% -ной борной кислоты, содержащей реактив Гроака, а затем колбу устанавливают под холодильник прибора для макроопределения азота так, чтобы кончик трубки холодильника был погружен на 0,5 – 1 см в кислоту. Затем колбу с озоленной пробой устанавливают на асбестовую прокладку прибора макро-Кьельдаля или штатив.

В мерный цилиндр наливают 40 – 60 см³ 40%-ного раствора NaOH и осторожно вливают его в отгоночную колбу, которую плотно закрывают, и содержимое осторожно перемешивают. Жидкость в колбе от индикатора фенолфталеина окрашивается в красно-фиолетовый цвет, указывающий на то, что количество щелочи прилито достаточно и можно начинать отгон аммиака.

После того как все отгоночные колбы и приемники подготовлены, пускают воду в холодильник, зажигают газ в горелках аппарата или открывают подачу пара в отгоночные колбы с парообразователя (в случае если вместо газовых горелок используется парообразователь) и начинают отгонку аммиака в течение 20 – 30 мин. По окончании отгонки конец трубки холодильника из промывалки ополаскивают дистиллированной водой в приемник и содержимое приемника титруют 0,01 н. раствором серной кислоты до перехода ярко-зеленой окраски в красно-фиолетовую.

Вычисление результатов анализа. Каждый миллилитр 0,01 н. серной кислоты связывает аммиак в количестве, соответствующем 0,14 мг азота. Умножая количество серной кислоты, пошедшей на титрование борной кислоты в приемнике, на поправку к титру и коэффициент 0,14 мг, узнают, сколько азота содержалось в объеме раствора озолота, взятом для отгонки аммиака.

Содержание азота определяют по формуле:

$$X = \frac{a \cdot T \cdot 0,14 \cdot 100}{n},$$

где X – содержание азота, %; а – количество 0,01 н. H₂SO₄, пошедшее на титрование, см³; Т – поправка к титру 0,01 н. H₂SO₄; n – навеска анализируемого вещества, соответствующая объему вытяжки, взятой для титрования; 100 – коэффициент для перевода в проценты.

Для расчета результатов анализа на абсолютно сухую массу растительного материала полученный результат умножают на $\frac{100}{100 - y}$, где у – содержание гигроскопической влаги, %.

Содержание сырого протеина рассчитывают умножением количества азота на 6,25. Коэффициент 6,25 получается из следующих вычислений. Среднее содержание азота в белке составляет 16%. Следовательно, 16 г азота соответствует 100 г белка:

$$X = \frac{100}{16} = 6,25.$$

Коэффициент 6,25 не является постоянным для сельскохозяйственных культур, его величина зависит от содержания азота в белке конкретной

группы растений (табл.).

Коэффициент пересчета азота на белок

Продукция	Содержание азота в белке, %	Коэффициент
Сено и зеленая масса трав, корнеклубнеплодов, зерно зерновых и зернобобовых, в том числе пивоваренного ячменя	16,0	6,25
Зерно гречихи, кукурузы	16,6	6,0
Зерно пшеницы, ржи, овса, ячменя (кроме пивоваренного)	17,6	5,7
Семена льна и других масличных культур	18,2	5,5

Определение белкового азота в растениях по Барнштейну

Пищевая и кормовая ценность урожая сельскохозяйственных культур определяется содержанием в нем белка. В зерне зерновых культур содержится от 7 до 28%, а у бобовых – от 20 до 35% белка. Содержание его в зерне определяется главным образом генетическими особенностями культуры, а также условиями выращивания. Поэтому определение содержания белкового азота, а следовательно, и количества белков как в процессе онтогенеза, так и в конечном урожае сельскохозяйственных культур имеет большое теоретическое и практическое значение как для изучения обмена азотсодержащих веществ, так и повышения пищевой ценности и технологических качеств зерна в зависимости от уровня применения удобрений, передовой агротехники и др.

Определение содержания и качества белка в зерне зерновых и крупяных культур в настоящее время является обязательным при приемке урожая на элеваторах и перерабатывающих зерно предприятиях.

Принцип метода. Белковые вещества осаждают основной солью сернокислой меди $\text{CuSO}_4 \cdot \text{Cu}(\text{OH})_2$ в щелочной среде при нагревании. Осадок белка отмывают от солей и растворимых азотистых веществ и сжигают концентрированной серной кислотой с последующим отгоном аммиака. Найденное количество азота пересчитывают на белок.

Ход анализа. 0,2 – 1 г воздушно-сухого или 5 г свежего материала отвешивают на аналитических весах, помещают в химический стакан емкостью 150 – 200 см³, добавляют около 50 см³ горячей дистиллированной воды и содержимое нагревают до кипения. Если материал содержит много крахмала, то нагревают 10 мин на водяной бане при 40 – 50°C. В горячий раствор приливают сначала 25 см³ раствора медного купороса, а затем при помешивании небольшими порциями 25 см³ щелочи NaOH. Образующаяся основная соль сернокислой меди $\text{CuSO}_4 \cdot \text{Cu}(\text{OH})_2$ осаждает белок в виде комплекса белковых молекул и меди. Осадок оставляют на 1 ч. Затем содержимое стакана фильтруют в колбу емкостью 250 – 300 см³, сливая по стеклянной палочке жидкость над осадком, стараясь не переносить его на фильтр. К осадку прибавляют доведенную до кипения горячую воду и

палочкой перемешивают содержимое, дают осадку вновь отстояться и жидкость опять сливают на фильтр. Промывание осадка декантацией продолжают до прекращения появления мути в вытекающем из трубки воронки фильтрате от прибавления 10 капель раствора хлористого бария. Отсутствие реакции указывает на чистоту отмывания осадка от небелковых азотистых веществ.

Далее осадок переносят на фильтр, несколько раз ополаскивают колбу и вместе с фильтром на воронке подсушивают в сушильном шкафу при температуре 50 – 60°C в течение 2 ч. После этого осадок вместе с фильтром помещают в колбу Кьельдаля, приливают 10 – 15 см³ – концентрированной серной кислоты, сжигают осадок с фильтром, отгоняют аммиак и определяют количество азота таким же образом, как это описано в § 5.2.4.5. Содержание белка вычисляют, умножая рассчитанное количество азота (%) на соответствующий каждой группе культур коэффициент (табл. 5.14).

Определение нитратов в растениях и кормах ионометрическим методом

В связи с тем, что повышенное содержание нитратов в пище и кормах может оказать неблагоприятное влияние на здоровье человека и сельскохозяйственных животных или даже вызвать отравление, ведется контроль за их содержанием в растениях, кормах и воде. Отравление нитратами наступает обычно, когда в организм взрослого человека поступает NO₃ более 6 мг/кг массы тела. Предельной нормой поступления нитратов в организм взрослого человека по данным ВОЗ считается 3,5 мг N – NO₃ на килограмм массы в сутки. Токсичным считается содержание нитратов в корме 0,07% N – NO₃ и более на сухое вещество. Содержание нитратов в воде не должно превышать 10 мг/л N – NO₃. Предельно допустимые концентрации нитратов (NO₃) для овощных и плодовых культур приведены в таблице.

Предельно допустимые концентрации нитратов для овощей, фруктов, мг/кг сырого продукта

Сельскохозяйственная продукция	Предельно допустимая концентрация нитратов
овощи и фрукты открытого грунта	
Картофель	150
Капуста поздняя	400
Кабачки, Лук (перо)	400
Лук (репка)	80
Томаты	100
Огурцы	150
Салат, щавель, укроп, петрушка	1500
Морковь поздняя	200
Свекла столовая	1400
Яблоки, груши, арбузы	80

Дыни	90
овощи защищенного грунта	
Томаты	300
Огурцы	400
Салат, щавель, укроп, петрушка	3000
Лук (перо)	800
Вода, молоко	45

Предельно допустимые концентрации нитратов и нитритов в комбикормах для крупного и мелкого рогатого скота – 500 и 10 мг/кг (первое значение NO_3 , второе NO_2), Для свиней и птицы – 200 и 5, в грубых кормах (сено, солома) – 500 и 10, в зеленых кормах – 200 и 10, в силосе (сенаж) – 200 и 100, в зернофураже – 300 и 10, в кормовом картофеле – 300 и 10, свекле – 800 и 10 мг/кг сырого продукта.

Принцип метода основан на измерении активности нитрат-иона ион-селективным электродом в солевой суспензии 1%-ного раствора алюмокалиевых квасцов при соотношении пробы и раствора алюмокалиевых квасцов: 1:10 – для сухих растений и кормов, 1:4 – для сырого растительного материала.

Ход анализа. Измельченные пробы сухого растительного материала (корма) массой 0,5 г или сырого растительного материала массой 12,5 г помещают в бытовые банки, установленные в 10-позиционную кассету или бутылки емкостью 250 см³, приливают по 50 см³ 1%-ного раствора алюмокалиевых квасцов, закрывают крышкой или пробкой и взбалтывают на встряхивателе или ротаторе в течение 30 мин. В полученной суспензии измеряют активность нитрат-иона.

Определение крахмала в растениях поляриметрическим методом

Крахмал относится к основным резервным углеводам. Состоит из молекул глюкозы и откладывается в виде зерен. Зерна крахмала имеют слоистую структуру. Размер и форма этих образований у разных растений неодинаковы.

Основным показателем качества картофеля является накопление крахмала, от которого зависят его вкусовые качества. Содержание крахмала в клубнях картофеля варьирует в основном от 8 до 25%, но чаще находится в интервале 14 – 18%.

В зерне содержание крахмала изменяется в зависимости от биологии культуры: в зерне пшеницы – 57 – 75%, ячмене – 56 – 66%, рисе – 62 – 86%, кукурузе – 57 – 72%.

Принцип метода. Метод основан на изменении угла вращения плоскости поляризации поляризованного луча света, проходящего через раствор сахара, в который превращается крахмал после кислотного гидролиза.

Анализ семян зерновых. 5 г хорошо измельченных семян помещают в мерную колбу на 100 см³ с расширенным горлом (колба Кальерауша) и приливают 25 см³ 1%-ной соляной кислоты. Содержимое колбы

перемешивают, приливают еще 25 см³ 1%-ной соляной кислоты. Колбу ставят на кипящую баню на 15 мин и в конце нагревания в течение 5 мин непрерывно помешивают. После охлаждения в колбу приливают 30 см³ дистиллированной воды и 5 см³ 10%-ного раствора фосфорно-вольфрамовой кислоты для осаждения белков. Объем жидкости в колбе доводят до метки дистиллированной водой и, дав отстояться, фильтруют через сухой фильтр в сухую колбу. Бесцветный фильтрат помещают в поляриметрическую трубку и находят угол вращения (по инструкции, прилагаемой к прибору).

Расчет производят с учетом навески и разведения:

$$P = \frac{\alpha \cdot 100 \cdot V}{[d]_D^{20} \cdot l \cdot n},$$

где P – концентрация крахмала, %; α – угол вращения, в градусах круговой шкалы; $[d]_D^{20}$ – удельное вращение гидролизата крахмала анализируемой культуры; l – длина трубки поляриметра, дм; V – объем раствора, в котором гидролизована навеска, см³; n – навеска исследуемого вещества, г.

При расчетах следует иметь в виду, что удельное вращение для гидролизата крахмала различных культур характеризуется следующими величинами: для пшеницы – 182,7, ржи – 184,0, ячменя – 181,5, кукурузы – 184,6, проса – 171,4, гречихи – 179,5, овса – 191,4.

Анализ картофеля. 12,5 г картофельной мякоти отвешивают на технических весах в фарфоровую чашку. Навеску смывают 1%-ной HCl в колбу Штифта емкостью 100 см³. Колбу закрывают пробкой с обратным холодильником и помещают в кипящую водяную баню на 15 мин. Затем приливают 50 – 60 см³ воды и быстро охлаждают. Для осветления в раствор приливают 1 см³ 20%-ной фосфорно-вольфрамовой кислоты, перемешивают, доводят водой до метки, закрывают пробкой, встряхивают и фильтруют через двойной фильтр в сухую посуду. Заполняют этим фильтратом поляриметрическую трубку и находят в поляриметре угол вращения в градусах круговой шкалы.

Расчет содержания крахмала (%) производят по приведенной выше формуле. Удельное вращение для гидролизата крахмала картофеля равно 195,4.

Определение крахмала в растениях по удельному весу клубней

Метод не отличается большой точностью, но очень прост, не требует много времени и поэтому часто применяется. В основе его лежит линейная зависимость между плотностью клубней и содержанием крахмала в процентах P. Эта зависимость хорошо описывается уравнением $P = 210 (d - 1) - 2,8$.

Определив плотность клубней, по этой формуле рассчитывают содержание крахмала. Плотность клубней удобнее всего определять с помощью специальных "картофельных весов". Однако при отсутствии их для проведения этого анализа используют весы, у которых чашки для

взвешивания заменены на две проволочные корзины. Одну корзину помещают в кадку с водой. В этом положении весы устанавливают на нуль (рис. 5.1).

Среднюю пробу картофеля отбирают из клубней различной величины и формы. Соотношение клубней различной величины и формы, взятых для анализа, должно примерно отвечать наличию их в исследуемой партии картофеля. Масса средней пробы — около 20 кг. Клубни тщательно моют и просушивают на воздухе. В верхней корзинке весов отвешивают ровно 5 кг клубней. Затем их пересыпают в корзинку, находящуюся в воде, и снова взвешивают. Масса клубней в воде будет меньше первой на количество вытесненного клубнями объема воды. Плотность рассчитывают по формуле

$$\frac{5}{5 - a},$$

где a — масса клубней в воде, кг.

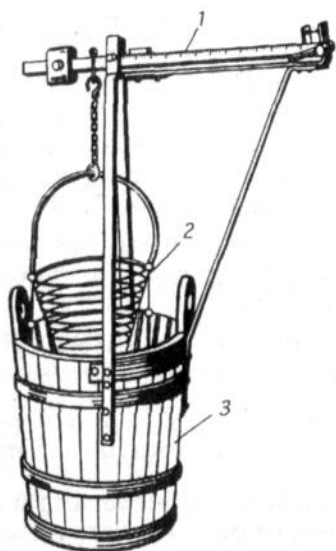


Рис. 5.1. Весы для определения удельной массы клубней картофеля:

1 — весы; 2 — корзина для картофеля; 3 — кадка с водой.

Поляриметрический метод определения сахарозы в растениях

Принцип метода основан на способности оптически активных веществ, к которым относится и сахароза, изменять (вращать) плоскость поляризации поляризованного луча света. Количественный учет сахара основан на зависимости величины угла вращения от концентрации сахара в растворе.

Растительный материал, содержащий сахарозу (корни сахарной и кормовой свеклы), измельчают до получения мезги. После перемешивания измельченного вещества берут на теххимических весах при помощи фарфоровой чашки 26 г мезги и переносят в широкогорлую колбу Штифта вместимостью 201,5 см³. Остатки навески из чашки многократно смывают дистиллированной водой в ту же колбу, доводя ее объем до 150 – 160 см³ и прибавляют туда 7 см³ 10%-ного раствора уксуснокислого свинца. Колбу устанавливают на 30 мин на водяную баню, нагретую до 80°C, периодически перемешивая содержимое колбы. Температуру водяной бани все время поддерживают на этом уровне, контролируя ее термометром. После 30-минутного прогревания объем в колбе доводят почти до метки подогретой до 80°C дистиллированной водой и опять устанавливают на 15 мин на водяную баню. Затем колбу с содержимым охлаждают до 20°C в проточной водопроводной воде и доводят объем в колбе дистиллированной водой до

метки. Содержимое колбы тщательно перемешивают и фильтруют через плотный складчатый фильтр в сухой и чистый стакан или колбу. Полученным прозрачным фильтратом заполняют поляриметрическую трубку и устанавливают в поляриметр. Вначале прибор на "нулевое" положение настраивают по дистиллированной воде. Наблюдая поле зрения прибора, вращают рукоятку компенсатора до тех пор, пока оба поля не окрасятся в совершенно одинаковые цвета. Отсчет производят по шкале, записывая целые и десятые доли числа между основной шкалой и нулем нониуса.

Поляриметрическую трубку после каждого определения тщательно моют дистиллированной водой и ополаскивают очередным раствором определяемой пробы.

Расчет содержания сахарозы в анализируемой пробе растительного материала проводят по формуле:

$$x = \frac{a \cdot 2 \cdot 0,75 \cdot 100}{26},$$

где x- процент сахара; а – отсчет по шкале поляриметра; 2 – поправочный коэффициент на объем раствора; 0,75 – содержание сахара в 100 см³, отвечающее 1° поляриметра, г; 100 – коэффициент для выражения результатов анализа в %, 26 – навеска, г.

Определение жира в растениях по массе обезжиренного остатка по Рушковскому

Жиры и жироподобные вещества являются важными и обязательными биологическими соединениями для живых клеток и запасующих органов растений. В живых растительных клетках жиры и их производные выполняют роль структурных компонентов цитоплазмы, энергетического и запасного вещества. В семенах жир откладывается в качестве запасного энергетического материала. В семенах различных растений содержание жира колеблется от 2 до 60% . Главнейшими масличными культурами, из семян которых получают растительные жиры в промышленных размерах, являются подсолнечник, соя, лен, конопля, горчица, рапс и др.

Принцип метода основан на извлечении из навески растительного материала жира первоначально петролейным эфиром или бензином, а затем этиловым эфиром в аппарате Сокслета (рис. 5.2). Обезжиренную навеску высушивают и взвешивают. По убыли массы растительного материала вычисляют содержание в нем жира.

Бумажные пакетики предварительно обезжиривают, доводят до постоянной массы, нумеруют простым карандашом. Навеску измельченных семян около 1 г помещают в пакетик, сушат в термостате при температуре 105°С до постоянной массы, записывают их массу. Пакеты с навесками по 10 – 12 шт. помещают в марлевый мешочек и опускают в широкогорлую банку с притертой пробкой из темного стекла емкостью 1 – 1,5 дм³. Содержимое банки на 3/4 объема заливают петролейным 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 ч в аппарат Сокслета и остатки масла извлекают этиловым эфиром. Для определения полноты экстрагирования каплю экстракта наносят на часовое стекло. Если жир извлечен полностью, на стекле не останется пятна.

Работу аппарата Сокслета регулируют так, чтобы в течение часа происходило 6 – 8 сливаний эфира, а температуру в водяной бане поддерживают в пределах 50 – 60°C в зависимости от температуры воздуха в помещении. Если необходимо прервать экстракцию исследуемого вещества, его оставляют в экстракторе, заполненном эфиром. Экстракцию проводят в вытяжном шкафу. По окончании экстрагирования для удаления паров эфира мешочки вынимают из экстрактора и пакетики раскладывают на бумаге в вытяжном шкафу. Затем пакетики переносят в стеклянные бюксы с притертыми крышками (по одному пакету) и высушивают в термостате при 105°C в течение 2 – 3 ч. Преимущество метода состоит в том, что за одну экстракцию анализируется 15 – 20 образцов. После высушивания бюксы с пакетиками охлаждают в эксикаторе и каждый пакетик взвешивают.

Определение сырой клетчатки по Ганнебергу и Штоману

Клетчатка – важный компонент грубых и сочных кормов (сена, силоса, жмыха и кормовых корнеплодов). Содержание клетчатки в грубых кормах достигает 40 – 60%, в зеленых кормах – 10 – 20% и корнеплодах – 1% . Завышенное содержание клетчатки в кормах резко ухудшает их качество. Качество кормов по содержанию клетчатки оценивается по 20-балльной шкале: при содержании клетчатки меньше 25% (в расчете на сухое вещество) – 20 баллов; 26,1 – 29,0% – 16 баллов; 29,1 – 32% – 12; 32,1 – 36,0% – 8; 36,1 – 39,0 – 4 балла и больше 40% – 0 баллов.

Метод основан на удалении из навески корма кислотным и щелочным гидролизом легкорастворимых углеводов, крахмала, белков, аминов, амидов, жира, а также частично гемицеллюлоз и лигнина. Полученный остаток, имеющий в своем составе в основном целлюлозу, небольшое количество гемицеллюлоз и лигнина, представляет собой сырую клетчатку.

Навеску воздушно-сухого измельченного корма 1,5 г для грубых и сочных кормов и 2 г для концентратов помещают в стакан вместимостью 300 – 400 см³ с меткой на 200 см³ и заливают 200 см³ 4%-ного раствора H₂SO₄, предварительно подогретого до 70 – 80°C. Смесь тщательно перемешивают стеклянной палочкой, нагревают до кипения на плитке и кипятят 5 мин. Затем стакан снимают с плитки, дают отстояться осадку и горячий раствор отсасывают при помощи воронки Джандиери с бумажным фильтром или (для кормов с содержанием клетчатки не ниже 5%) через воронку, обтянутую тканью для капронового сита с диаметром отверстий не более 0,1 мм, используя для создания вакуума водоструйный или вакуумный насос. Бумажный фильтр вырезают точно по диаметру воронки Джандиери с тем,

чтобы закрыть все отверстия ее дна, смачивают водой и, плотно прижав ко дну воронки, отсасывают горячий раствор в колбу Бунзена. По мере понижения уровня жидкости в стакане воронку вынимают из стакана, переворачивают фильтром вверх и дают оставшейся жидкости стечь в колбу. После этого фильтр снимают пинцетом, прикладывают его к внутренней стенке стакана и струей горячей дистиллированной воды из промывалки смывают приставшие частицы. В стакан приливают горячую дистиллированную воду до 200 см³ и снова отсасывают жидкость. После третьего отсасывания смывают фильтр небольшим количеством дистиллированной воды, приливают в стакан 100 см³ 5%-ного раствора гидроокиси калия и доливают дистиллированной водой до 200 см³. Затем кипятят в течение 5 мин.

Содержимое стакана фильтруют через воронку Бюхнера с бумажным фильтром, предварительно высушенном в течение 1 ч при 105°C и взвешенным вместе с бюксой. Осадок на воронке Бюхнера тщательно отмывают от щелочи горячей дистиллированной водой, затем промывают 15 см³ спирта и 15 см³ эфира. Промытый осадок с фильтром переносят в ту же бюксу, в которой высушивали пустой фильтр, сушат в термостате при 105°C в течение 4 ч, охлаждают в эксикаторе и взвешивают на аналитических весах.

Вычисление результатов. Содержание сырой клетчатки в воздушно-сухом веществе (X,%) рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{в \cdot 100}{а},$$

где а – навеска корма, г; в – масса сырой клетчатки, рассчитанной по разности между массой бюксы с фильтром и осадком и массой фильтра и бюксы, г; 100 – коэффициент для перевода в проценты.

За результат принимают среднее из двух определений. Допустимые расхождения между параллельными определениями – 10 отн. %.

Определение аскорбиновой кислоты (витамина С)

Определение содержания витамина С в урожае сельскохозяйственных культур, и прежде всего в плодах и овощах, имеет важное значение для качественной оценки растительных продуктов питания. Количество витамина С в растениях зависит от почвенно-климатических условий выращивания и системы удобрения.

Метод определения аскорбиновой кислоты основан на ее способности восстанавливать целый ряд органических соединений, и в том числе красителя 2,6-дихлорфенолиндофенол в бесцветное соединение. Количество обесцвеченной краски соответствует количеству аскорбиновой кислоты в анализируемом материале.

Навеску измельченного материала (1 – 3 г для зеленых листьев и 5 – 10 г для корнеплодов, кочанов, луковиц, плодов и др.) помещают в фарфоровую ступку. Добавляют на кончике скальпеля кварцевый песок и приливают в ступку 20 см³ 1%-ной соляной кислоты. Содержимое ступки растирают

пестиком до гомогенной массы, растирание длится не более 10 мин. Гомогенат из ступки количественно переносят в мерную колбу на 100 см³, пользуясь воронкой без фильтра и стеклянной палочкой. Ступку, пестик и палочку многократно смывают 2%-ным раствором метафосфорной кислоты в ту же колбу, перемешивают содержимое 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 колбу или стакан на 100 см³. Из фильтрата берут две параллельные пробы по 10 – 20 см³ и переносят в малые фарфоровые чашки, их содержимое титруют из микробюретки синей краской (2,6-дихлофенолиндофенолом) до появления ясно-розовой окраски, не исчезающей 1 мин, каждую каплю краски размешивают в чашке стеклянной палочкой.

Учитывая, что смесь соляной и метафосфорной кислоты может также обладать восстановительными свойствами по отношению к синей окраске, вводят поправку в результаты опытного титрования. Для этого в контрольную колбу на 100 см³ помещают 20 см³ 1%-ной НС1, доводят водой до метки метафосфорной кислотой, перемешивают. Берут две параллельные пробы раствора, равные по объему опытным, и помещают в чистые фарфоровые чашки. Титруют контрольные растворы синей краской из микробюретки. Данные контроля вычитают из результатов титрования опытного образца.

Вычисление результатов. Содержание аскорбиновой кислоты выражают в миллиграммах витамина на 100 г сырой массы:

$$C = \frac{v \cdot x \cdot 0,088 \cdot V \cdot 100}{n \cdot d}$$

где *v* – объем раствора краски, пошедшей на титрование, см³; *x* – нормальность краски; 0,088 – мг-экв краски; *V* – объем (общий) экстракта, см³; *d* – объем экстракта, взятый на титрование, см³; *n* – навеска, г.

Содержание витамина С в овощах и плодах приведено в табл.

Содержание витамина С в овощах и плодах
(мг на 100 г сырой массы)

Овощи	Содержание витамина С	Плоды	Содержание витамина С
Картофель	10 – 20	Яблоки	5 – 30
Белокачанная капуста	10 – 40	Вишня	5 – 15
Капуста цветная	50 – 150	Виноград	0 – 5
Морковь	5 – 10	Черная смородина	100 – 400
Томаты	20 – 40	Лимон	40 – 60
Лук репчатый	5 – 20	Шиповник	1000 – 4000
Лук зеленый	40 – 60	Зерно злаков	0

Определение микроэлементов в растениях

Микроэлементы входят в состав ферментов и выполняют важную биохимическую роль в углеводном, белковом, липидном и других процессах обмена веществ растений, животных и человека. Растения являются основным источником микроэлементов для сельскохозяйственных животных. Их состояние, рост и развитие зависят от содержания микроэлементов в кормах. Важное значение имеет также содержание микроэлементов в продуктах питания. Поэтому определение микроэлементов в растениях имеет большое практическое значение с точки зрения как обеспеченности микроэлементами самих растений, так и оценки их кормовых и пищевых достоинств.

Получение достоверных результатов о содержании микроэлементов в растениях в значительной мере зависит от выполнения целого ряда условий.

Во избежание загрязнения анализируемой пробы микроэлементами или тяжелыми металлами в процессах пробоподготовки и анализа необходимо строго соблюдать установленные требования. Особое внимание следует уделять прежде всего чистоте реактивов и посуды.

При отборе растительного материала нужно использовать чистые (промытые дистиллированной водой и высушенные) мешочки из отбеленной хлопчатобумажной ткани или полиэтилена.

Свежие растения перед высушиванием следует отмыть от почвы и атмосферной пыли в дистиллированной воде или 0,1%-ном растворе ЭДТА. Сухие или увядшие растения отмывать нельзя, так как из отмерших и увядших тканей растений многие элементы легко переходят в воду и раствор. Режущий и измельчающий инструмент (ножи, ножницы, мельницы и др.) не должны содержать металлы, определяемые в растениях. Необходимо учитывать, что при пересыпании измельченного растительного материала в тару для хранения происходит сегрегация (перераспределение) частиц по размеру и массе. Поэтому перед взятием навески образцы следует тщательно перемешать.

Источником загрязнения проб часто является посуда. При определении микроэлементов используют химически стойкую прозрачную стеклянную посуду, не содержащую определяемые элементы, типа «Пирекс» или из фторопласта, оргстекла, полиэтилена, а при анализе бора пользуются кварцевой посудой. Необходимо учитывать, что окрашенные сорта стекол, в том числе бытовая посуда, содержат много примесей микроэлементов и тяжелых металлов. Сухое озоление растительного материала следует проводить в кварцевых, фторопластовых (тефлоновых) или платиновых тиглях (стаканах). Фарфоровые глазурованные тигли часто служат источником загрязнения пробы микроэлементами. Для мокрого озоления используют колбы и стаканы кварцевые или из термостойкого стекла.

Для очистки посуды применяют соду, разбавленную (5 – 10%-ную) соляную или азотную кислоту и другие моющие средства, не содержащие анализируемые элементы. После очистки посуду последовательно

промывают 0,1%-ным раствором ЭДТА или 0,05%-ным раствором дитизона, водопроводной водой, дистиллированной или бидистиллированной водой.

Реактивы, используемые при анализе микроэлементов, должны соответствовать классу х.ч. или ч.д.а.

Для контроля возможного загрязнения проводят холостой опыт в двукратной повторности, включающий все стадии анализа, кроме взятия навески анализируемого материала, и вводят соответствующие поправки в результаты анализов.

Определение микроэлементов в растительном материале состоит из двух основных этапов: минерализации – сухое или мокрое озоление анализируемого растительного материала и получение раствора золы; непосредственного определения микроэлементов в растворе минерализата.

Метод сухого озоления основан на разложении растительного материала путем сжигания проб растений в муфельной печи при строго контролируемом температурном режиме.

Мокрое озоление заключается в полном разложении растительной пробы при кипячении ее в концентрированных азотной, серной кислотах или их смеси с добавлением активных окислителей – пероксида водорода или хлорной кислоты.

Для определения микроэлементов и тяжелых металлов в растворе, полученном после сухого или мокрого озоления, применяют различные методы анализа. Выбор метода анализа зависит от содержания микроэлементов в растениях, чувствительности приборов, сложности проведения анализа и его стоимости. В агрохимических и экологических исследованиях используют в основном метод атомно-абсорбционной спектрофотометрии и фотоколориметрические методы анализа, позволяющие определять в растительном материале практически все микроэлементы и тяжелые металлы.

Атомно-абсорбционный метод более селективный и чувствительный, что дает возможность без предварительного концентрирования минерализата, полученного при озолении относительно небольшой навески (2–5 г) растительного материала, определять марганец, железо, цинк и медь. При определении молибдена, кобальта и тяжелых металлов (свинец, кадмий, хром, никель и др.) навеску для озоления увеличивают до 10–15 г. Для определения бора, ртути и мышьяка методом атомной абсорбции требуется более сложная пробоподготовка.

Методы атомно-абсорбционной спектрофотометрии (ААС) и фотоколориметрии основаны на селективном поглощении атомами определяемого элемента световой энергии.

Концентрацию элемента в анализируемом растворе определяют путем сравнения его оптической плотности с оптической плотностью растворов с известным содержанием данного элемента. Для приготовления стандартных растворов используют те же растворители, что и для анализируемых растворов.

Лабораторные стандартные растворы готовят из государственных

стандартных образцов (ГСО) или стандарт-титра путем их разбавления. ГСО представляют собой стеклянные ампулы, содержащие в растворе 1 г/дм³ ионов металлов. Используют ГСО для приготовления в основном запасных стандартных растворов с высокой концентрацией элемента (обычно 10–50 мг/см³), что допускает их длительное хранение.

Диапазон концентраций рабочих стандартных растворов должен соответствовать ожидаемому содержанию определяемого элемента в исследуемых растениях и рабочему диапазону концентраций прибора. В большинстве случаев для определения металлов (меди, свинца, марганца, никеля, кобальта, хрома, молибдена, лития, стронция, алюминия, железа, кальция и др.) из запасных стандартных растворов готовят рабочие растворы следующих концентраций: 0,1; 0,5; 1,0; 2,0; 5,0; 10,0 и 20,0 мг/дм³. Для определения кадмия, цинка, магния готовят рабочие растворы следующих концентраций: 0,05; 0,10; 0,20; 0,50; 1,00; 2,00; 5,00 мг/дм³.

Сухое озоление и получение раствора золы растений при определении микроэлементов и тяжелых металлов

В агрохимических лабораториях при массовых анализах растительного материала на содержание микроэлементов и тяжелых металлов наиболее широко используют способ сухой минерализации (озоления). Он менее трудоемкий, не требует большого количества особо чистых реактивов, необходимых при мокром озолении.

Растительный материал озоляют в муфельной печи при температуре 450–500 (± 20)°С с последующим переводом зольных элементов в раствор. Сухое озоление используют для определения железа, кадмия, кобальта, марганца, меди, молибдена, никеля, свинца, хрома, цинка и других металлов. При определении цинка, кадмия и ртути озоление проводят при температуре 400–430 (± 15)°С.

В фарфоровые (неглазурованные) или кварцевые тигли берут на аналитических весах навески измельченного сухого растительного материала: при определении железа, марганца, цинка и меди – 2–4 г ($\pm 0,001$ г); при определении молибдена, кобальта, кадмия, свинца, никеля, хрома и ртути – 10–20 г и предварительно обугливают под тягой на электроплитке или газовой горелке до прекращения выделения дыма, не допуская воспламенения материала.

Затем тигли помещают в муфель и обугливают образцы сначала при температуре 250–280°С до окончательного прекращения выделения дыма. Предварительное низкотемпературное озоление растительного материала позволяет избежать интенсивно восстановительных условий за счет большого количества углерода в пробе и предотвратить потери элементов. После этого температуру в муфеле повышают до 500°С (до темно-красного каления) и продолжают минерализацию при этой температуре в течение 3–6 ч до получения светло-серой золы. При определении цинка, кадмия и ртути температура озоления во избежание частичных потерь металлов не должна

превышать 440°C.

Полученную золу охлаждают до комнатной температуры, смачивают по каплям 1 см³ разбавленной (1:1) азотной кислоты и после ее выпаривания на песчаной бане снова помещают в муфельную печь. Температуру в муфеле доводят до 300–350°C и выдерживают 30 мин. Доозоление повторяют несколько раз до получения золы белого цвета без темных обугленных частиц.

Параллельно с анализируемыми пробами проводят холостое определение: в 2–3 тигля, не содержащих навесок, добавляют то же количество реактивов, что и в тигли с пробами, и проводят все этапы – обугливание, озоление и растворение.

Метод мокрого озоления растительного материала

Метод мокрого озоления основан на минерализации растительной пробы при кипячении ее в концентрированной серной или азотной кислоте или в смеси этих кислот с добавлением в качестве катализатора пероксида водорода или хлорной кислоты.

На аналитических весах берут навеску измельченного растительного материала [при определении железа, марганца, цинка и меди – 2–3 г ($\pm 0,001$ г), при определении молибдена, кобальта, кадмия, свинца, никеля, хрома и ртути – 8–10 г], переносят ее в колбу Кьельдаля, с помощью мерного цилиндра добавляют под тягой смесь (1 : 1 по объему) концентрированных серной и азотной кислот из расчета 10 см³ на каждые 5 г пробы и выдерживают без нагревания 30–40 мин. При определении свинца, хрома и ртути для озоления используют только концентрированную азотную кислоту в таком же количестве. Затем колбу закрывают воронкой (в качестве обратного холодильника) или стеклянной пробкой «слезкой», помещают в нишу для озоления и медленно нагревают до спокойного кипения, которое поддерживают до упаривания объема содержимого колбы примерно вдвое.

Затем колбу Кьельдаля охлаждают, приливают цилиндром 5–6 см³ азотной кислоты и содержимое кипятят до прекращения выделения бурых паров оксидов азота. После этого в охлажденную колбу приливают 5 см³ азотной кислоты и 2 см³ пероксида водорода на каждые 5 г пробы и содержимое кипятят до полного обесцвечивания раствора. Минерализацию считают законченной, если раствор после охлаждения остается бесцветным. При желтой или светло-коричневой окраске раствора в колбу снова добавляют 5 см³ азотной кислоты и 2 см³ пероксида водорода и кипятят до прекращения выделения бурых паров оксидов азота и полного обесцвечивания раствора. После окончания озоления в охлажденную колбу Кьельдаля добавляют 10–15 см³ бидистиллированной воды для погашения энергии гидратации кислоты, содержимое охлаждают и количественно (ополаскивая колбу Кьельдаля 3–4 раза бидистиллированной водой) переносят через воронку в мерную колбу на 50 или 100 см³ для хранения и дальнейшего определения микроэлементов.

Одновременно для контроля качества реактивов проводят холостое (без

навески) озоление.

Определение содержания цинка в растениях атомно-абсорбционным методом

Принцип метода. Метод основан на измерении поглощения свободными атомами цинка светового (резонансного) излучения с длиной волны 213,9 нм, проходящего через пламя горелки. Содержание цинка в подготовленном после сухого или мокрого озоления растительного материала растворе (минерализате) определяют атомно-абсорбционным методом путем введения (в виде аэрозоля) раствора в воздушно-ацетиленовое пламя. Сопоставляя оптическую плотность исследуемого раствора с оптической плотностью растворов сравнения с известной концентрацией цинка, находят его содержание в растениях.

Проведение анализа. Атомно-абсорбционный спектрофотометр настраивают на определение цинка. В пламя горелки вводят образцовый раствор с нулевой (первый), а затем с наиболее высокой концентрацией цинка (пятый) для установления диапазона работы прибора. После установления режима работы прибора фотометрируют шкалу образцовых растворов, а затем анализируемые растворы золы. Настройку прибора периодически корректируют, вводя в пламя через каждые 10–15 измерений первый и третий образцовые растворы. Пользуясь градуировочным графиком, находят содержание цинка в растительном материале (мг/кг):

$$Zn = aM - k,$$

где a – коэффициент, учитывающий разбавление минерализата;

M – концентрация цинка в минерализате (растворе золы) в пересчете на содержание цинка в растительном материале, найденная по графику, мг/кг;

k – концентрация цинка в контрольном (холостом) растворе, мг/см³.

Определение меди в растворе золы растений

Атомно-абсорбционный метод. Метод основан на измерении интенсивности поглощения атомами меди линии спектра света 324,7 нм. Раствор вводят в воздушно-ацетиленовое пламя.

Приготовление стандартных растворов. Запасной стандартный раствор меди: берут на аналитических весах 3,929 г ($\pm 0,001$ г) сульфата меди ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$), переносят в мерную колбу вместимостью 1 дм³, приливают 1 см³ концентрированной серной кислоты (пл. 1,84) и доводят объем бидистиллированной водой до метки. В 1 см³ приготовленного раствора содержится 1 мг меди. Хранят раствор не более 6 мес.

Рабочий стандартный раствор меди: в мерную колбу вместимостью 100 см³ берут 2 см³ запасного раствора и объем доводят до метки 0,5 М

раствором соляной кислоты. Полученный раствор содержит 20 мкг/см³ меди. Хранят раствор до 1 мес.

При необходимости анализа растительного материала на содержание других микроэлементов допускается использование смешанного стандартного раствора меди, цинка, марганца, железа и других элементов.

Установив режим подачи газов и ток накала лампы атомно-абсорбционного спектрофотометра, выставляют необходимый диапазон измерения концентрации на шкале прибора. Для этого в пламя вводят первый, а затем пятый образцовые растворы. Спустя 1–2 мин операцию повторяют и положение стрелки гальванометра или показания дисплея корректируют, устанавливая «нуль» прибора по нулевому (первому) раствору. После этого фотометрируют шкалу стандартных растворов, а затем анализируемые растворы золы. Настройку прибора корректируют через 10–15 измерений, вводя в пламя первый и третий образцовые растворы.

Используя градуировочный график, находят содержание меди в растительном материале по той же формуле, что и содержание цинка.

Определение марганца в растворе золы растений

Атомно-абсорбционный метод. Метод основан на измерении интенсивности поглощения света атомами марганца исследуемого раствора золы, введенного в воздушно-ацетиленовое пламя. Для определения используют аналитическую линию марганца с длиной волны 279,5 нм.

Перед проведением анализа настраивают атомно-абсорбционный спектрофотометр. По нулевому раствору (растворитель без марганца) устанавливают показания прибора на «нуль», по раствору с максимальной концентрацией марганца – необходимый размах шкалы. Для этого в пламя вводят последовательно первый и пятый образцовые растворы. После настройки прибора фотометрируют шкалу образцовых растворов, а затем анализируемые растворы. Настройку прибора корректируют через 10–15 измерений, вводя в пламя первый и третий образцовые растворы шкалы. Используя градуировочный график, массовую концентрацию марганца в растительном материале (мг/кг) находят по формуле:

$$Mn = aM - K,$$

где a – коэффициент, учитывающий разбавление минерализата;

M – концентрация марганца в минерализате (растворе золы) в пересчете на содержание марганца в материале, найденная по графику, мг/кг;

K – концентрация марганца в контрольном (холостом) растворе, мг/см³.

При определении содержания марганца на атомно-абсорбционном спектрофотометре исследуемые растворы золы и растворы сравнения разбавляют хлоридом стронция. Для этого в мерные пробирки на 10 см³ переносят по 5 см³ анализируемого раствора, к нему приливают 5 см³ раствора хлорида стронция и после перемешивания измеряют оптическую плотность раствора. Градуировку прибора также проводят по растворам, разбавленным хлоридом стронция.

Определение железа в растениях

Атомно-абсорбционный метод. Метод основан на измерении поглощения атомами железа линии спектра света с длиной волны 248,3 нм при введении раствора в воздушно-ацетиленовое пламя. Для устранения химических помех в раствор золы предварительно добавляют стронций до концентрации 1 мг/см³.

Приготовление растворов. 1. Соляная кислота, разбавленная 1 : 3 и 1 :15 (по объему).

2. 0,6%-ный раствор хлорида стронция шестиводного: 6 г ($\pm 0,05$ г) $\text{SrCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ помещают в мерную колбу вместимостью 1 дм³, приливают примерно 300 см³ дистиллированной воды, добавляют 16,4 см³ концентрированной соляной кислоты, перемешивают и объем раствора доводят водой до метки.

3. Запасной стандартный раствор железа: 8,634 г ($\pm 0,02$ г) железозааммонийных квасцов $[\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}]$ помещают в мерную колбу вместимостью 1 дм³, приливают произвольно 300–400 см³ дистиллированной воды и добавляют 2,5 см³ концентрированной серной кислоты. Содержимое перемешивают и после растворения квасцов объем раствора доводят до метки дистиллированной водой. Полученный раствор в 1 см³ содержит 1 мг железа.

4. Рабочий стандартный раствор железа: в мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают 20 см³ запасного стандартного раствора и объем доводят до метки 2,5%-ным раствором соляной кислоты. Полученный раствор содержит 200 мкг/см³ железа. Раствор хранят до 3 мес.

Построение градуировочного графика. В пять мерных колб вместимостью 100 см³ приливают 0; 1; 2; 5 и 10 см³ рабочего стандартного раствора, содержащего 200 мкг/см³ железа, и доводят объем до метки 2,5%-ным раствором соляной кислоты. Концентрация железа в приготовленных растворах сравнения будет соответствовать 0; 2; 4; 10 и 20 мг/дм³.

По результатам измерения оптической плотности образцовых растворов строят градуировочный график, откладывая на оси абсцисс концентрацию марганца в растворе сравнения (мг/дм³), соответствующую образцовому раствору, а на оси ординат – показания измерительного прибора.

При использовании пламени ацетилен–воздух вводят в пламя первый раствор сравнения и устанавливают начало («нуль») отсчета. Затем вводят остальные растворы сравнения в порядке возрастания в них концентрации железа и анализируют растворы золы. После проведения 10–15 измерений корректируют настройку прибора.

При использовании пламени пропан–бутан–воздух для устранения спектральных помех в растворы золы вводят раствор стронция. Для этого из растворов сравнения и растворов золы берут аликвоты по 5 см³, помещают в пробирки и добавляют к ним по 5 см³ раствора хлорида стронция. Дальнейший ход анализа такой же, как и при использовании пламени ацетилен–воздух.

Концентрацию железа в растворе золы находят по градуировочному графику. Содержание его в растительном материале (мг/кг) вычисляют по формуле (см. «Определение меди в растворе золы», стр. 270).

Посуда. Колбы мерные вместимостью 10, 500 и 1000 см³. Стаканы вместимостью 50–100 см³. Пипетки вместимостью 10 см³. Бюретка на 25 или 50 см³.

Определение кобальта в растворе золы растений

Приготовление раствора золы. Остаток золы после прокаливания в муфеле охлаждают, смачивают бидистиллированной водой, приливают 2 см³ концентрированной азотной кислоты для более полного окисления органических веществ и тщательно перемешивают стеклянной палочкой.

Содержимое тигля упаривают досуха на плитке, затем тигель помещают в муфель и выдерживают 15–20 мин при температуре 500°C. При наличии углистых частичек обработку азотной кислотой с последующим прокаливанием повторяют. К охлажденной золе добавляют 5 см³ 20%-ной соляной кислоты, содержимое осторожно упаривают досуха, не допуская разбрызгивания раствора, и остаток прокаливают при температуре 500°C. Затем к остатку в тигле добавляют 2,5 см³ 20%-ной соляной кислоты и 5 см³ бидистиллированной воды, накрывают часовым стеклом и кипятят в течение 10 мин. Раствор переносят в мерную колбу вместимостью 50 см³ через воронку с фильтром, обмывают стенки тигля водой и доводят объем раствора в колбе до метки бидистиллированной водой.

Атомно-абсорбционный метод. Определение содержания кобальта в растениях основано на измерении интенсивности поглощения атомами кобальта монохроматического светового потока.

Содержание кобальта в растительном материале определяют атомно-абсорбционным методом напрямую (без концентрирования) после разложения и перевода в раствор довольно большой навески. Однако для повышения чувствительности определения и устранения мешающего влияния сопутствующих металлов 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.

20 см³ анализируемого раствора помещают в делительную воронку вместимостью 100 см³, добавляют 25 см³ маскирующего раствора и 2 см³ раствора 2-нитрозо-1-нафтола. Содержимое тщательно перемешивают и отстаивают в течение 1 ч. Затем приливают 5 см³ изоамилового эфира уксусной кислоты (изоамилацетата), содержимое воронки энергично встряхивают в течение 1–2 мин и после разделения фаз нижний водный слой сливают, а экстракт сливают в пробирку с притертой пробкой, в котором определяют кобальт.

Для построения градуировочного графика в делительные воронки вместимостью 100 см³ берут 0; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 и 5,0 см³ стандартного

раствора сравнения с содержанием кобальта 1 мкг/см³ и доводят до 20 см³ бидистиллированной водой. Далее все операции по экстрагированию и определению кобальта проводят, как указано выше при анализе испытуемого раствора.

Определение бора в растениях

Фотометрический метод определения бора с хинализарином. Основан на образовании в растворе концентрированной серной кислоты окрашенного в голубой цвет комплексного соединения бора (H_3BO_3) с хинализарином и измерении оптической плотности раствора.

Чтобы не загрязнять исследуемый материал, в работе нельзя использовать глазурованные фарфоровые ступки и посуду из боросиликатного стекла. Растительный материал растирают в металлических ступках или в ступках из оргстекла. При определении бора проводят сухое озоление растительного материала. Мокрый способ озоления растений дает заниженные результаты вследствие потерь бора из-за улетучивания его из кислых растворов при кипячении. Для сухого озоления используют платиновые, кварцевые или фторопластовые тигли. Для снижения потерь бора при озолении добавляют оксид кальция или магния.

Озоление и приготовление раствора золы. Разложение растительного материала при определении бора проводят сухим озолением.

Навеску 2–4 г ($\pm 0,001$ г) сухого растительного материала помещают в кварцевый, фторопластовый или платиновый тигель, добавляют 0,1 г оксида кальция (CaO), перемешивают кварцевой палочкой (палочку оставляют в тигле), тигель с навеской помещают в холодную муфельную печь и постепенно нагревают при открытой дверце печи до температуры 200–250°C. После прекращения выделения дыма при обугливания температуру повышают до 450–500°C и продолжают озоление до получения белой или светло-серой золы. После охлаждения в тигель с золой осторожно приливают 10 см³ 1 н. раствора серной кислоты, тщательно перемешивают палочкой из кварцевого или органического стекла и, не фильтруя, переносят в пробирку из такого же безборного стекла или пластика. Пробирку закрывают пластиковой пробкой и отстаивают до просветления раствора.

В пробирку из кварцевого или органического стекла берут 1 см³ отстоявшегося анализируемого раствора и осторожно приливают из бюретки 9 см³ раствора хинализарина в концентрированной серной кислоте, содержимое тщательно перемешивают и оставляют на 2 ч в темном месте для окончания реакции и отстаивания. Затем, не фильтруя, измеряют оптическую плотность отстоявшегося раствора в кюветах с толщиной просвечивающего слоя 2 см при оранжево-красном светофильтре (длине волны 620 нм) относительно «нулевого» раствора сравнения (1 см³ 1 н. H_2SO_4 и 9 см³ раствора хинализарина). При смене раствора в кювете его не сливают, а отсасывают с помощью водоструйного насоса через пластиковый капилляр, чтобы избежать растекания концентрированной серной кислоты по внешним

стенкам кюветы.

Построение градуировочного графика. В восемь градуированных пробирок вместимостью 10 см³ приливают из микробюретки 0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,6; 0,8 и 1,0 см³ рабочего стандартного раствора, содержащего 10 мкг/см³ бора, и объем раствора в пробирках доводят до 1 см³ 1 н. H₂SO₄. Затем в каждую из них осторожно приливают по 9 см³ раствора хинализарина, содержимое перемешивают и оставляют на 2 ч в темном месте. В приготовленных растворах сравнения (в 10 см³) содержится соответственно 0; 1; 2; 3; 4; 6; 8 и 10 мкг бора. Затем, не фильтруя, измеряют оптическую плотность отстоявшихся образцовых растворов в кюветах с толщиной просвечиваемого слоя 2 см при оранжево-красном светофильтре (620 нм).

По результатам фотометрирования растворов строят градуировочный график, откладывая на оси абсцисс концентрацию бора, на оси ординат – показания прибора.

Содержание бора в растениях (мг/кг) вычисляют по формуле:

$$B = \frac{CV}{mV_1},$$

где С – концентрация бора, найденная по градуировочному графику, мкг;

V – общий объем исходного раствора золы, см³;

m – масса навески анализируемого материала, г;

V₁ – объем раствора золы, взятого для анализа, см³.

Определение молибдена в растениях

Фотоколориметрический метод определения молибдена с использованием цинк-дителиола. Метод основан на образовании комплексного соединения молибдена с дителиолом, окрашенного в зеленый цвет. Интенсивность окраски определяют колориметрически после экстракции соединения хлороформом. Мешающее влияние железа, вольфрама и меди устраняют добавлением к раствору аскорбиновой, лимонной кислот и йодида натрия.

Приготовление раствора золы. Золу в тигле смачивают 3–4 каплями бидистиллированной воды, добавляют 2 см³ концентрированной хлорной кислоты и содержимое нагревают на песчаной бане или электроплитке до прекращения выделения дымящих паров. Затем тигель с золой помещают в муфельную печь, постепенно нагревают до 450–500°С и выдерживают при этой температуре 15–20 мин. После охлаждения тигля в него приливают 20 см³ 20%-ной соляной кислоты и ставят на 20 мин на кипящую водяную баню. Тигель охлаждают и раствор количественно переносят из него в мерную колбу на 50 см³, обмывая тигель 14%-ным раствором соляной кислоты, и им же доводят объем до метки.

Аликвоту анализируемого раствора золы 25 см³ переносят пипеткой в делительную воронку вместимостью 100 см³, добавляют 0,5 см³ 1%-ного

раствора железоммонийных квасцов, 2 см³ маскирующего раствора и оставляют стоять 2–3 мин. Затем в воронку приливают 3 см³ 50%-ного раствора иодида калия или натрия, снова выдерживают 2 мин и добавляют 2 см³ 0,3%-ного раствора цинк-дитиола. После добавления очередного реактива раствор в воронке тщательно перемешивают. Затем в нее добавляют 4 см³ хлороформа и содержимое встряхивают в течение 2–3 мин для более полной экстракции окрашенного комплекса. Жидкости дают отстояться и после разделения фаз нижний органический слой, окрашенный в зеленый цвет комплексным соединением молибдена с дитиолом, фильтруют через сухой бумажный фильтр непосредственно в кювету или пробирку с притертой пробкой. Окраска раствора устойчива в течение 5–6 ч.

Оптическую плотность экстракта измеряют на спектрофотометре при длине волны 680 нм или фотоколориметре (красный светофильтр) в кювете с толщиной просвечиваемого слоя 2 см относительно чистого хлороформа.

При использовании кювет с толщиной просвечиваемого слоя 3–5 см объемы вытяжки и реактивов увеличивают в 1,5 раза, а хлороформа – в 2,5 раза.

Построение градуировочного графика. В семь мерных делительных воронок вместимостью 100 см³ приливают из бюретки или пипеткой 0; 0,5; 1; 2; 3; 4 и 5 см³ рабочего стандартного раствора, что соответствует 0; 0,5; 1; 2; 3; 4 и 5 мкг молибдена, добавляют по 0,5 см³ 1%-ного раствора железоммонийных квасцов и доводят объем в воронках 14%-ной HCl до 25 см³. Далее все операции экстракции и определения оптической плотности экстракта аналогичны анализу растворов золы растений.

По данным фотометрирования строят градуировочный график, откладывая на оси абсцисс массовую концентрацию молибдена в образцовых растворах шкалы, на оси ординат – показания прибора. Концентрацию молибдена в анализируемом растворе золы находят по градуировочному графику и вычитают из него результат холостого опыта.

Содержание молибдена в растениях (мг/кг) вычисляют по формуле:

$$Mo = \frac{CV}{mV_1},$$

где С – концентрация молибдена, найденная по градуировочному графику, мкг;

V – общий объем исходного раствора золы, см³;

m – масса навески анализируемого материала, г;

V₁ – объем раствора золы, взятого для анализа, см³.