

О. Б. ГАСПАРЯН

РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ХИМИЧЕСКОМУ АНАЛИЗУ РАСТЕНИЙ

1. Подготовка материалов к анализу

После отбора первоначальной пробы подготавливается средняя проба для анализа. Аналитическая проба может быть в свежем, в воздушно-сухом и законсервированном состоянии.

В свежем состоянии анализируются растения, если в них необходимо определить вещества, легко изменяющиеся (витамины, углеводы, формы азотистых соединений и др.).

Для воздушно сухого состояния доводят тот растительный материал, который идет для определения вещества, мало изменяющегося (зола, азот, фосфор и пр.).

Необходимость консервирования образцов возникает тогда, когда невозможно быстро сделать соответствующий анализ в свежем состоянии. Сущность консервации заключается в прекращении деятельности ферментов.

а) Отбор аналитических проб. Доставленный в лабораторию исследуемый материал прежде всего освобождается от каких-либо случайных посторонних примесей.

Корни и клубни осторожно отмываются в воде от приставшей земли, затем споласкиваются струей дистиллированной воды. Листья и стебли очищаются кисточкой и если нужно, обтираются. Освобожденный от посторонних примесей материал или непосредственно подвергается исследованию, или предварительно высушивается и анализируется уже в высушенном виде.

б) Сохранение материалов, богатых водой. При работе с сырыми, богатыми водой материалами, необходимо постоянно иметь в виду их легкую изменчивость, зависящую, главным образом, от двух обстоятельств. Во-первых, в сырых продуктах быстро заводятся низшие организмы (бактерии, грибы), во-вторых, многие составные части растений способны изменяться, окисляясь (почернение свеклы, картофеля, яблок) или гидратируясь под влиянием находящихся в растениях ферментов.

в) Высушивание. Действие повышенной температуры может вызывать в исследуемом материале целый ряд изменений, оказывающих существенное влияние на результаты дальнейших определений. Если высушивание ведется при сравнительно слабом нагревании, не выше 50-60°C, то необходимо считаться с усилением деятельности ферментов как окислительных, так и гидролизующих. Внешним обра-

зом деятельность окислительных ферментов проявляется в изменении цвета, потемнении или побурении поверхности высушиваемых объектов.

Под влиянием гидролизующих ферментов происходит усиленный распад полисахаридов и белковых веществ и накопление продуктов их гидролиза. При более сильном нагревании — до 70°C и выше ферменты разрушаются и деятельность их прекращается, но зато начинают идти процессы другого характера, также связанные с изменением ряда входящих в состав растений веществ.

Методика высушивания: для того чтобы свести к минимуму возможные при высушивании изменения, необходимо сначала подвергнуть материал кратковременному нагреванию до $80-90^{\circ}\text{C}$ для прекращения деятельности ферментов. Дальнейшее высушивание следует вести более низкой температуре, не выше $60-65^{\circ}\text{C}$. Во избежание окисления легко окисляющихся веществ целесообразно вести высушивание в струе индифферентного газа. Значительное ускорение достигается применением вакуума.

Перед высушиванием сочные мясистые части растений — корнеплоды, клубни, плоды — разрезаются острым ножом на тонкие ломтики и нанизываются на нитки. Во избежание потери сока не следует непосредственно класть нарезанные ломтики на нагреваемую поверхность. Травянистые части растений, если нужно, разрезают на крупные части (во избежание потери сока резать на мелкие части не следует). Материал помещают в сушильный шкаф (лучше термостат) и быстро поднимают температуру до $80-90^{\circ}\text{C}$.

Свежий растительный материал измельчают ножницами, ручными терками и другими приспособлениями.

Независимо от того, в каком состоянии будет анализироваться материал, средняя проба должна быть основательно измельчена и перемешана.

2. Определение сухого вещества и влаги в свежем растительном материале

В широкий бюкс помещается около 5 г чистого песка и стеклянная палочка (расположенная в бюксе по диагонали и, не мешая, закрывающаяся его крышкой). Бюкс вместе с содержимым доводится до постоянного веса при температуре $100-105^{\circ}\text{C}$. Навеска вещества в 6-7 г помещается в этот бюкс и взвешивается на аналитических весах. Для предварительной сушки материала бюкс со снятой крышкой помещается в сушильный шкаф и выдерживается при температуре $50-60^{\circ}\text{C}$ в течение 4 часов. Подсушивание ведется до тех пор, по-

ия при легком надавливании стеклянной палочкой можно установить, что вещество в биксе стало хрупким. После этого навеску в биксе продолжают сушить при температуре 100-105°C еще 3-4 часа. Затем следует охлаждение в эксикаторе и взвешивание.

Высушивание в течение 2 часов и взвешивание повторяется до тех пор, пока разница между двумя последними взвешиваниями станет меньше 0,0003 г.

Содержание сухого вещества вычисляется по формуле:

$$\text{Сухое в-во } C\% = \frac{d \cdot 100}{b}$$

где d - вес сухого вещества во взятой навеске,
 b - исходная навеска вещества,

Зная содержание сухого вещества, можно вычислить содержание влажности (процент влаги) по формуле:

$$q = 100 - C$$

где $-q$ - содержание влаги, %
 c - содержание сухого вещества, %.

Определение гигроскопической влаги. Берется 2-3 г воздушно-сухого растительного вещества в стеклянный бикс. Высушивание образца ведется при температуре 100-105°C в течение 4-5 часов.

Содержание гигроскопической влаги в % вычисляется по формуле:

$$\% \text{ гвгр. влаги} = \frac{(q - q_1) \cdot 100}{q}$$

где $-q$ - навеска воздушно-сухого растительного вещества в г, взятая для определения гигроскопической влаги;
 q_1 - вес растительного вещества после высушивания, г.

3. Сухое озоление образца

Для проведения зольного анализа компоненты растительного вещества следует перевести в раствор, а для этого необходимо разрушить органическое вещество. С этой целью растительный материал подвергают сухому или мокрому озолению, в результате которого происходит окисление органического вещества до CO_2 и H_2O . При проведении зольного анализа сухое озоление предпочтительнее, так как возможные минеральные примеси при этом не переходят в раствор.

Однако при проведении сухого озоления, даже при соблюдении всех правил, возможны потери некоторых элементов, таких как хлор, йод, сера.

Для того, чтобы сухое озоление прошло быстро и без потерь

растительного вещества и отдельных элементов, необходимо начинать озоление с низких температур и проводить прокаливанию при температуре 400-450°C.

Недопустимо быстрое сжигание растительного вещества, сопровождающееся вспышками, а также проведение озоления сразу при высокой температуре. Быстрое озоление ведет к местному перегреву, иногда даже к взрыву и раскаливанию зола добела.

При медленном и осторожном озолении растительного материала и прокаливании зола при температуре не выше 400-500°C существенных потерь калия, натрия, фосфора не происходит, а следовательно и не происходит существенного искажения результатов.

а) Определение "сырой" зола

При сухом озолении растительного материала получается "сырая" зола. В ее состав входят: зольные элементы, минеральные примеси и углекислота, получаемая при окислении органического вещества растительного образца и связываемая кальцием, магнием, калием и натрием.

Озоление можно проводить сразу в муфеле и медленно повышать температуру до 400-450°C.

В первый период озоления происходит сухая возгонка вещества, затем при медленном и постепенном повышении температуры зола светлеет.

Если зола содержит большое количество кремневокислых и фосфорнокислых солей (зола соломы), то эти соли могут обволакивать неосторевшие частицы и препятствовать полному озолению. Рекомендуется в этом случае тигель охладить, осторожно обработать золу 1-2 мл 30% перекиси водорода или дистиллированной водой, содержимое тигля высушить и тигель снова поставить в муфель.

Полученная "сырая" зола имеет или белый, или слегка сероватый цвет. Если много окиси железа, зола имеет буровато-красный цвет, а если много марганца - цвет ее зеленоватый. Зола, доведенную до постоянного веса, а следовательно и до полного озоления, переносят в стеклянный бюкс с притертой крышкой и хранят до поступления на анализ.

Содержание "сырой" зола в % на условно называемое абсолютно сухое растительное вещество рассчитывается по формуле:

$$A = \frac{6 \cdot 100}{q(100 - a)} \quad \text{или} \quad A = \frac{6 \cdot 100}{q} \cdot K$$

где A - содержание "сырой" зола, %;

C - вес "сырой" зола, г;

q - навеска воздушно-сухого растительного образца, г;

a - % гигроскопической влаги.

$$X = \frac{100}{(100-a)} \quad \text{коэффициент для пересчета абсолютно-сухой навески.}$$

б) Определение чистой золы

"Сырая" зола состоит не только из тех минеральных частей, которые входили в состав первоначального вещества, но и других веществ (углекислота, частички негоревшего угля, песка), которые могли быть примешанными к исходному веществу.

Чистой золой называется зола, свободная от указанных примесей. Она определяется по разности между весом сырой золы и находящейся в ней весом углекислоты, песка и угля.

в) Определение щелочности золы

Щелочностью золы называется число миллилитров нормальной раствора кислоты, идущей на нейтрализацию 1 г золы. Зола имеет щелочную реакцию, благодаря большому содержанию углекислых солей калия и натрия. Определение щелочности можно производить, используя золу после определения общей зольности.

Ход определения: 0,2 г навески золы помещается в стакан из жаростойкого стекла, приливается точно отмеренное количество титрованной 0,1 N соляной кислоты и нагревается 5 минут для разложения углекислых солей. Содержимое стакана осторожно размешивается и избыток кислоты оттитровывается 0,1 N раствором NaOH в присутствии индикатора метилового красного. В отдельной пробе берется "холостой опыт".

Щелочность золы выражается в миллилитрах нормальной кислоты на 100 г золы. Наряду с определением щелочности золы, одновременно определяется и углекислоты сырой золы ацидиметрическим методом по формуле:

$$\% \text{CO}_2 = \frac{(a - b) N \cdot 0,022 \cdot 100}{H}$$

где a - количество 0,1 N раствора щелочи, пошедшей для нейтрализации 0,1 N HCl в "холостом" опыте, мл;

b - количество 0,1 N раствора щелочи, пошедшей для нейтрализации избытка 0,1 N HCl во взятой навеске золы, мл;

N - нормальность раствора NaOH.

0,022 коэффициент пересчета мг-экв CO_2 на г;

H - навеска "сырой" золы, г.

Активы: 1. 0,1 N раствор HCl

2. 0,1 N раствор NaOH.

3. 0,1 % раствор метилового-красного в спирте.

Таблица I

Выведение калибровочного коэффициента при определении общего азота колориметрическим методом по Несслеру (на ФЭК-МН-56, толщины кивет 10.00 мм оф. № 3, концентрация раствора 1 мл = 0,0035 мг N)

А		Б			Средняя	$K = \frac{A}{B}$
Концентрация стандартного раствора		Оптическая плотность повторности				
мг/100	N мг/100	I	II	III		
5	0.0175	0.0515	0.0515	0.0516	0.0515	0,34
10	0.0350	0.0950	0.1000	0.1000	0.1000	0.35
15	0.0525	0.1350	0.1300	0.1330	0.1330	0.40
20	0.0700	0.1670	0.1650	0.1660	0.1660	0.42
25	0.0875	0.2000	0.2000	0.2000	0.2000	0.44
30	0.1050	0.2400	0.2400	0.2300	0.2400	0.40
35	0.1225	0.2600	0.2600	0.2400	0.2600	0.47
40	0.1400	0.3000	0.3000	0.3000	0.3000	0.46
45	0.1575	0.3200	0.3150	0.3200	0.3200	0.49
50	0.1750	0.3350	0.3400	0.3500	0.3400	0.51

$$K = \frac{K_{II}}{II} = \frac{4,28}{10} = 0,43$$

X Калибровочный коэффициент выведен 15/У.77г.

Таблица 2

Выведение калибровочного коэффициента при определении общего фосфора по Тросту-Мейеру
(на ФЭК-МН-56, кювет 10.00 мм сф. № 9, концентрация раствора 1 мл = 0.01 мг P_2O_5)

А		Б				К = $\frac{А}{Б}$
Концентрация стандартного раствора		Оптическая плотность			Средняя	
		Повторности				
мл/100	P ₂ O ₅ мг/100	І	ІІ	ІІІ		
І	0.01	0.03	0.03	0.03	0.03	0.33
2	0.02	0.07	0.07	0.07	0.07	0.29
3	0.03	0.09	0.09	0.09	0.09	0.33
4	0.04	0.12	0.12	0.13	0.12	0.33
5	0.05	0.15	0.15	0.15	0.15	0.33
6	0.06	0.18	0.17	0.17	0.18	0.33
7	0.07	0.21	0.21	0.21	0.21	0.33
8	0.08	0.24	0.25	0.25	0.25	0.32
9	0.09	0.26	0.27	0.27	0.26	0.34
10	0.10	0.31	0.30	0.31	0.30	0.33

$$K = \frac{K_{\text{п}}}{n} = \frac{32.6}{10} = 0,33$$

^x Калибровочный коэффициент выведен 25/VI-77 г.

5. Определение водорастворимых сахаров в овощах и плодах

Значение анализа. Овощи, ягоды и плоды содержат мало крахмала. Однако количество растворимых сахаров в них может достигать заметных величин. Соотношение между дисахаридами (среди них первое место принадлежит сахарозе) и моносахаридами (глюкоза, фруктоза) колеблется в широких пределах для различных овощных культур.

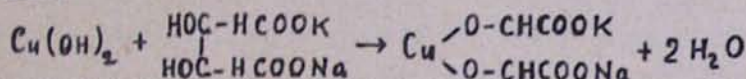
Анализ овощей на содержание сахара в основном проводится из свежего материала. Определение сахаров химическим путем основано на присущей им восстанавливающей способности (непосредственно или после инверсии). После извлечения сахара определяются весовым, объемным или колориметрическим методом.

Большинство химических методов определения редуцирующих сахаров основано на легкой окисляемости этих сахаров и способности их восстанавливать различные соединения. Восстанавливающими свойствами могут обладать и некоторые другие вещества в растительных вытяжках (дубильные вещества, белки, аминокислоты), поэтому необходимо более полное удаление этих веществ.

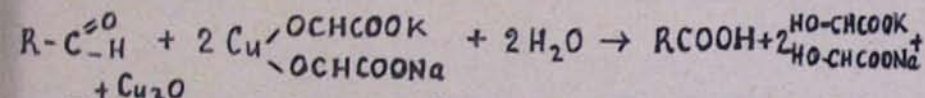
В аналитической практике широко применяется определение редуцирующих сахаров по методу Бертрана.

Принцип метода. Для анализа используется Феллингова жидкость — смесь медного купороса с сегнетовой солью в щелочной среде. При смешивании медного купороса со щелочью происходит следующая реакция

В присутствии сегнетовой соли в щелочной среде гидрат окиси меди в осадок не выпадает, так как образуется комплексное соединение:

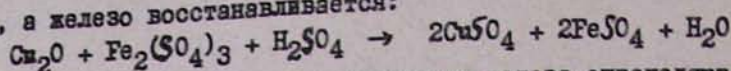


Феллингова жидкость окисляет альдегидные и кетонные группы. При взаимодействии раствора сахара с феллинговой жидкостью сахар окисляется и образуется закись меди:

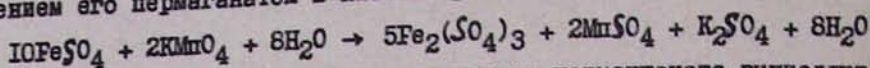


По количеству образовавшейся закиси меди можно судить о содержании сахара в растворе. Количество закиси меди обычно определяют объемным методом. Для этого на закись меди действуют сернокислым окисным железом или железосаммиачными квасцами в кислом растворе. В результате реакции закисная медь переходит в

окисную, а железо восстанавливается:



Количество образовавшегося двухвалентного железа определяют окислением его перманганатом в кислой среде:



По количеству затраченного на титрование перманганата вычисляют количество закиси меди и затем содержание сахаров в растворе.

Ход определения. Для определения сахаров, как и для большинства других биохимических анализов, используют свежий растительный материал. При необходимости фиксации материала, его следует замораживать жидким азотом или твердой углекислотой и затем засушивать лиофилизацией, или фиксировать 96% спиртом. Фиксацию проб при высокой температуре в термостате или в аппарате Коха нельзя считать удовлетворительной. В этих случаях при повышении температуры в начале высушивания происходит частичное ферментативное расщепление дисахаридов, полисахаридов, а также фосфорных эфиров сахаров.

Навеска 5-10 г хорошо измельченного растительного материала переносится в мерную колбу емкостью 100-250 мл, прибавляется 70-200 мл горячей воды и выдерживают колбу в течение 1 часа на водяной бане при температуре 80-90° при периодическом взбалтывании для экстракции сахаров. После экстракции колба охлаждается, для осаждения белков и других примесей добавляется 5 мл 10% раствора уксуснокислого свинца, перемешивается и доводится водой до метки. Жидкость фильтруется в сухую колбу. Берется 50 мл фильтрата, переносится в мерную колбу емкостью 100 мл и добавляется 3-5 мл насыщенного раствора сульфата натрия для удаления избытка свинца. Раствор в колбе перемешивается и доводится водой до метки. После отстаивания раствор отфильтровывается. Фильтрат служит для определения сахаров.

Определение редуцирующих сахаров. 10 мл раствора переносится в коническую колбу емкостью 100 мл, добавляется 10 мл 4% раствора $\text{CaSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (Феллинг I) к 10 мл щелочного раствора сегнетовой соли (Феллинг II)^х.

После прибавления растворов колбу нагревают до кипения и кипятят ровно 3 минуты. В результате взаимодействия редуцирующих сахаров с феллинговой жидкостью выпадает красный осадок закиси меди (Cu_2O). После отстаивания синюю жидкость при отсасывании фильтру-

^х После добавления феллинговой жидкости смесь нельзя оставлять долго, т.к. происходит старение осадка и промывание происходит неполностью.

лит в колбу Бунзена через кварцевый фильтр № I, накрытый асбестом. Колбу и фильтр промывает несколько раз (до промывания избытка CaSO_4) и фильтр с осадком переносится на другую чистую колбу Бунзена. Осадок Ca_2O растворяется в 10 мл кислого раствора железоминеральных квасцов. После растворения осадков содержимое воронки перемешивается стеклянной палочкой, воронка споласкивается на 5 мл раствором окисного железа, а потом горячей водой. Промывные воды собираются в колбу Бунзена.

По окончании промывания осадка теплый раствор титруется 0,1 N раствором перманганата калия до слабого порозовения, не исчезающего в течение 20-30 секунд.

Необходимо поставить "контрольный" анализ на воде.

Содержание редуцирующих сахаров вычисляется по формуле:

$$(X) \text{ Глюкоза в } \% = \frac{A \cdot 100}{H \cdot 1000} \quad \text{или } X = 10 \frac{A}{B}$$

где A — количество глюкозы во взятом объеме раствора найдено по табл. 3., мг;

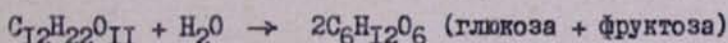
H — навеска в испытуемом объеме, г.

Вычисление результатов. Из приведенных выше уравнений реакций следует, что два атома меди соответствуют двум атомам железа, а так как 10 атомов железа отвечает двум молекулам KMnO_4 , то 10 атомов меди также будут соответствовать двум молекулам KMnO_4 . Таким образом 10 атомов Cu (635,4 мг) отвечают двум молекулам KMnO_4 (316,08 мг). Отсюда 1 мг KMnO_4 соответствует 2,01 мг меди или 1 мл точно 0,1 N раствора перманганата отвечает 6,36 мг Cu.

При расчетах содержания сахара в объеме раствора, взятого для анализа, необходимо число миллиметров 0,1 N раствора перманганата, затраченного на титрование (за вычетом объема перманганата израсходованного на контрольное определение), умножить на 6,36 и по количеству меди в таблице найти содержание глюкозы.

Полученный вес сахара пересчитывается на вес материала, взятого для анализа.

Определение сахарозы. Сахароза не восстанавливает Феллингову жидкость и не может быть определена по методу Бертрана. Для определения этим методом сахарозы необходимо предварительно гидролизовать. Гидролиз проводится под действием соляной кислоты и идет по следующей схеме:



При определении сахарозы берут 10 мл раствора, освобожденного от белков и приготовленного для анализа редуцирующих сахаров, переносят в коническую колбу емкостью 100 мл. Во вторую колбу емкостью 100 мл наливают 10 мл воды и вставляют в нее термометр. Обе колбы помещают в водяную баню с температурой около 80°C. Когда температура в контрольной колбе достигает 67-70°C (в колбу с анализируемым раствором прибавляется точно 1,5 мл HCl уд. веса 1.19. При этом концентрация кислоты в колбе будет равна 2%. Гидролиз проводится точно в течение 7 минут при температуре 67-70°C. По окончании гидролиза колба с исследуемым раствором быстро охлаждается под краном и в раствор добавляется несколько капель метилового красного. Затем раствор в колбе нейтрализуется 4% раствором NaOH. Щелочь надо приливать осторожно, по каплям, до перехода красной окраски индикатора в золотисто-желтую. После нейтрализации в полученном растворе определяется содержание сахаров методом Бертрана. Результат представляет собой сумму сахаров (редуцирующие сахара + сахароза).

Содержание сахарозы вычисляется по формуле:

$$\text{сахароза \%} = \frac{A-B}{n} \cdot 100 \cdot 0,95$$

где А - сумма сахаров в испытуемом растворе после инверсии - глюкоза, мг;

В - редуцирующие сахара - в испытуемом объеме, глюкоза, мг;

н - навеска в испытуемом объеме, г;

0,95 - коэффициент для пересчета глюкозы на сахарозу.

Реактивы: 1. Раствор Феллинга I - 40 г $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ х.ч. растворяется в 1 л воды.

2. Раствор Феллинга II - 200 г сегнетовой соли растворяется в воде, прибавляется 150 г NaOH и объем жидкости доводится до 1 л.

3. Раствор железосаммиачных квасцов 86 г $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot \text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$ или сернокислое железо 50 г $[\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}]$ растворяется в воде, осторожно прибавляется 109 мл H_2SO_4 уд. веса 1.84 и объем доводится до 1 л.

Таблица 3

Содержание редуцирующего сахара
(число миллиметров 0,1 N раствора KMnO_4 и соответствующее им количество
глюкозы в мг)

0,1 N KMnO_4 , мл	Десять доли 0,1 N KMnO_4 в мл									
	0,0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
	Г л у к о з а , мг									
0	0,0	0,3	0,6	0,9	1,2	1,6	1,9	2,2	2,5	2,8
1	3,1	3,4	3,7	4,0	4,3	4,7	5,0	5,3	5,6	5,9
2	6,2	6,5	6,8	7,1	7,4	7,7	8,1	8,4	8,7	9,0
3	9,3	9,6	10,0	10,3	10,6	10,9	11,2	11,6	11,9	12,2
4	12,6	12,9	13,2	13,6	13,9	14,2	14,5	14,9	15,2	15,6
5	15,8	16,1	16,4	16,8	17,1	17,4	17,7	18,1	18,4	18,7
6	19,0	19,3	19,6	20,0	20,2	20,6	21,0	21,3	21,6	22,0
7	22,3	22,6	23,0	23,3	23,7	24,0	24,4	24,7	25,1	25,4
8	25,7	26,0	26,3	26,7	27,0	27,3	27,7	28,0	28,3	28,7
9	29,0	29,3	29,7	30,0	30,4	30,7	31,1	31,4	31,8	32,1
10	32,4	32,8	33,1	33,5	33,8	34,1	34,5	34,9	35,2	35,6

6. Определение титруемой кислотности плодов и овощей

В плодах и овощах, а также в листьях многих растений часто накапливается значительное количество свободных кислот. Содержание органических кислот в свежих плодах и овощах имеет важное значение при их непосредственном использовании и консервировании.

Ход определения. В конические колбы переносится 50 мл из фильтрата, полученного после дигестии и прибавляется 2-3 капли спиртного раствора 0,2% фенолфталеина (при окрашенных растворах - кусочек лакмусовой бумаги) и при перемешивании титруется 0,1 N раствором NaOH.

Умножением количества израсходованной щелочи на поправку к ее титру и на коэффициент 0,0067 находится содержание растворимых кислот (в пересчете на яблочную) во взятой навеске вещества.

7. Определение сырого жира

Методы определения содержания сырого жира чаще всего основаны на способности жира растворяться в различных органических растворителях. При количественных определениях проводят полную экстракцию жира из растительного материала его обработкой каким-либо растворителем и учитывают количество экстрагированного жира. Но так как под действием органических растворителей обычно извлекаются не только жиры, но и свободные жирные кислоты, пигменты, эфирные масла, а также другие липиды - лецитины, кефалины, стеролы и т.д., то полученный препарат (в котором преобладают собственные жиры) часто называется "сырым" жиром^х.

8. Определение витамина С (аскорбиновой кислоты) по Тильмансу-Прокошеву

Аскорбиновая кислота широко распространена в растениях. Аскорбиновая кислота представляет собой ненасыщенное соединение с двумя энольными и двумя спиртовыми гидроксильными группами. Наиболее характерная особенность аскорбиновой кислоты - ее способность легко окисляться и восстанавливаться.

^х Подробное описание метода см. в кн. А.В.Петербургского "Практикум по агрономической химии", Изд-во "Колос", М., 1968, с. 137-144.



аскорбиновая кислота

дегидро-аскорбиновая кислота

Принцип метода. Метод определения основан на способности аскорбиновой кислоты восстанавливать в кислой среде индикатор синего цвета - 2,6-дихлорфенол-индофенол - до лейкоформы, при этом аскорбиновая кислота окисляется в дегидроаскорбиновую кислоту.

Ход определения. Навеска свежего растительного материала (5-10 г) заливается в ступке 20 мл 1% раствора HCl и тщательно (быстро) растирается до образования однородной массы. Процесс растирания не должен длиться больше 10 минут (для растирания можно применять свободный от железа кварцевый песок) и полученная смесь количественно переносится в мерную колбу (или цилиндр) 2% раствором шавелевой кислоты. Содержимое колбы доводится до метки 2% метафосфорной кислотой, хорошо перемешивается, отстаивается в течение 5 минут и фильтруется через сухой фильтр (часть экстракта). Соляная кислота извлекает из растительной ткани как свободную, так и связанную аскорбиновую кислоту. Метафосфорная же кислота осаждает белок и улучшает стойкость аскорбиновой кислоты в экстрактах.

Титрование вытяжек: из полученного фильтрата берется пипеткой 2 параллельные пробы по 10 мл, наливается в стаканчики (объемом около 50 мл) и титруются из микробюретки (или микропипетки) 0,001 N раствором краски (2,6 дихлорфенолиндофенол) до появления ярко-розового цвета, не исчезающего в течение 30 секунд.

Параллельно проводится контрольное титрование смеси применявшихся реактивов.

Вычисление результатов производят по следующей формуле:

$$X = \frac{(a-b) \cdot T \cdot 100}{N}$$

- где X - содержание аскорбиновой кислоты в мг на 100 г материала;
 а - количество миллилитров краски, израсходованной на титрование экстракта;
 б - количество миллилитров краски, пошедшей на контрольное титрование;
 Т - титр краски по аскорбиновой кислоте;
 Н - навеска исходного материала в анализируемой части экстракта.

Титр краски по аскорбиновой кислоте определяется следующим образом: в мерной колбе на 50 мл растворяется несколько кристалликов (1-1,5 мг) аскорбиновой кислоты (в смеси 1% HCl и 2% HPO_3); в две конические колбочки берут по 5 мл приготовленного раствора и после добавления кристалликов КУ (около 5-10 мг) и 5 капель 1% раствора крахмала титруют одну колбочку индикатором, другую - точно 0,001 N KIO_3 . Расчет титра окраски по аскорбиновой кислоте ведут по следующей формуле:

$$T = \frac{0,088}{\text{б}} \cdot \frac{\text{а}}{\text{а}}$$

- где Т - количество миллилитров аскорбиновой кислоты, соответствующее 1 мл краски;
 0,088 - количество миллилитров аскорбиновой кислоты, соответствующее 1 мл 0,001 N раствора йодата калия;
 а - количество миллилитров 0,001 N раствора йодата калия, израсходованного на титрование раствора аскорбиновой кислоты;
 б - количество миллилитров раствора краски, израсходованной на титрование.

- Реактивы: 1. 1% раствор соляной кислоты - 23 мл HCl уд. веса 1,19 - доводится дистиллированной водой до 1 л;
 2. 2% раствор метафосфорной или 1% щавелевой кислоты - 20 г кислоты растворяется и доводится водой до 1 л. Хранить в холодильнике 2-3 недели.
 3. Кварцевый песок, промытый соляной кислотой.
 4. Крахмал 1% солевой раствор готовится на насыщенном растворе хлористого натрия.
 5. 0,001 N раствор KIO_3 - 0,3568 г йодата калия, высушенного в течение 2 часов при 102°C растворяется и доводится водой до 1 л; полученный таким образом 0,1 N раствор разбавляется в 10 раз (можно взять KIO_3 фиксинал 0,1 N).
 6. 0,001 N раствор 2,6-дихлорфенолиндофенола; 60 мг

сухой краски переносится в мерную колбу 200 мл, прибавляется 100-150 мл теплой дистиллированной воды, сильно взбалтывается, затем доливается до метки водой (лучше оставлять на ночь) и фильтруется через плотный фильтр в сухую колбу - раствор краски устойчив в течение 8 дней при хранении в холодильнике. Титр краски по аскорбиновой кислоте определяют непосредственно перед опытом.

9. Определение β каротина (правитамина А)

Каротин $C_{40}H_{56}$ - синтезируют растения. В организме животных он окисляется и превращается в витамин А. Известны три изомера каротина α , β и γ , из которых наиболее распространен β каротин. Каротин нерастворим в воде, хорошо в хлороформе, эфире, ацетоне, бензине и трудно растворим в спирте.

Ход определения. 1-5 г измельченного свежего растительного материала тщательно растирается в ступке с кварцевым песком. Так как каротин в кислой среде неустойчив, то для нейтрализации кислот при растирании добавляется немного соды (Na_2CO_3) и для обезвоживания безводный Na_2SO_4 с отношением навески от 10 до 20 раз. После растирания в ступку прибавляется 5-10 мл петролейного эфира, материал снова растирается и оставляется на 10-15 минут (в темном месте). Затем содержимое ступки фильтруется при отсасывании, ступка ополаскивается петролейновым эфиром и материал промывается на фильтре небольшими порциями эфира до исчезновения окраски стекающего эфира. Полученный экстракт переносит в мерную колбу или цилиндр для измерения объема (можно довести петролейновым эфиром до 25 или 50 мл). Плотность полученной окраски измеряется на ФЭК-М за светофильтром № 3 толщиной кюветы 10 мм.

Содержание β каротина мг/100 г вычисляется по формуле

$$\beta \text{ каротин} \quad \text{мг/100} = \frac{A \cdot K \cdot 100}{n}$$

где А - плотность испытуемого экстракта;

К - коэффициент калибровочный;

н - навеска в г.

Для приготовления основного стандартного раствора азобензола растворяется 0,145 г перекристаллизованного азобензола в 100 мл 98% спирта.

Рабочий раствор готовится из основного раствора разбавлением в 10 раз. Для этого берут 10 мл основного раствора и доводят до метки 96% спиртом в колбе на 100 мл 1 мл окраски этого

раствора соответствует 0,00235 мг β каротина. Для приготовления калибровочной шкалы из рабочего стандарта берется 2.3.5.10 мл в градуировочные пробирки емкостью 25 мл или измерительные колбы и доводится спиртом до метки. Оптическая плотность эталонных растворов измеряется на ФЭК-М кюветами толщиной слоя 10 мл за светофильтром № 3.

10. Определение общего азота в растениях

В основе определения общего азота в почвах и растениях лежит метод Кьельдаля с его многочисленными модификациями, сущностью которых является ускорение времени мокрого сжигания, применяя катализаторы или окислители. При том или ином варианте мокрого сжигания органический азот вследствие минерализации связывается серной кислотой, образуя $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Содержание азота в виде иона NH_4^+ , в полученном растворе определяется в основном объемным или колориметрическим методом.

Объемные методы определения иона NH_4^+ делятся на два типа — ацидиметрические реакции и реакции, основанные на окислительно-восстановленных процессах.

При ацидиметрической титрации нужно отделить аммиак перегонкой — (прямым или обратным вариантами титраций). Для поглощения аммиака впервые рекомендован Винклером (J.W. Winkler, 1913) 4% раствор борной кислоты, вместо титрованного раствора серной кислоты, из тех соображений, что раствор борной кислоты нет необходимости точно отмерять и не требуется титрованного раствора NaOH (25 мл 4% H_3BO_3 поглощает 48 мг N). После перегонки аммиак связывается H_3BO_3 в виде $(\text{NH}_4)_3\text{BO}_3$ и титруется титрованным раствором H_2SO_4 или HCl в присутствии смешанного индикатора метил красный и метилен голубой.

Микродиффузионный метод Конвея

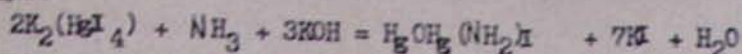
Ионы NH_4^+ поглощаются серной кислотой в чашках Конвея или обыкновенно герметической посуде. Избыток кислоты, не участвующей в реакции, обратно оттитровывается 0,005 N раствором Ba(OH)₂.

Чувствительность метода 0,001 мкг/N.

Колориметрическое определение ионов NH_4^+ при помощи неселенизации

Определение NH_4^+ при помощи реактива Несслера применяется в широких масштабах при анализе грунтовых и сточных вод, водной и солевой вытяжек почв, а также растений.

Сущность метода: ион NH_4^+ реагирует с реактивом Несслера щелочным раствором $\text{K}_2(\text{HgI}_4)$, образуя $\text{HgONH}_2(\text{NH}_2)\text{I}$ согласно реакции:



Определению ионов NH_4^+ при несслеризации мешают щелочно-земельные основания и полуторосиллы, влияние которых устраняется при добавлении сегнетовой соли. Предельная концентрация NH_4^+ , допускаемая определению по этому методу, не должна превышать 0,20 мг - в 100 мл.

II. Определение общего азота, фосфора и калия в одной навеске растительного материала

В последнее время широкое распространение получили ускоренные методы разложения навесок почвы и растений хлорной кислотой, смесью хлорной и серной кислот, серной кислотой с добавлением перхлората хлората калия и др. При этом разложение почв и растительной навески намного ускоряется.

Ход определения. Из воздушно-сухого материала берется 0,2-0,5 г жаростойкую, плоскодонную колбу емкостью 100 мл, смачивается несколькими каплями дистиллированной воды и приливается 5 мл свежеприготовленной смеси серной кислоты с хлорной (10:1), оставляется на ночь для полного обугливания. Сжигание сначала ведется умеренным нагреванием, а потом усиленным. В зависимости от характера образца время сжигания длится от 15 до 30 минут. В случае затягивания сжигания можно добавлять 1-2 капли HClO_4 .

Полученная бесцветная жидкость после остывания дистиллированной водой переносится при фильтровании в измерительные колбы емкостью 100 мл. В полученном фильтрате в отдельных аликвотах определяются азот, фосфор и калий.

Определение азота колориметрическим методом по Несслеру

Из фильтрата берутся две пробы по 2-5 мл, одна в измерительную колбу на 100 мл, другая в маленькую колбочку. В пробах, взятых в колбочки, определяется количество 2N раствора едкого калия или натрия, требуемого для установления pH раствора при реакции несслеризации (при избытке щелочи происходит потеря аммиака, а при недостатке ее окраска раствора не развивается). Количество щелочи, пошедшей для нейтрализации, записывают на измерительных колбах.

После этого приступают к подготовке образцов для колоримет-

рирования. Для этого в измерительную колбу с исследуемой пробой добавляется безаммиачная дистиллированная вода до объема 75-80 мл, 2 мл свежеприготовленного 50% раствора сегнетовой соли, перемешивается, добавляется из бюретки предварительно установленное количество 2N раствора едкого натра и сразу же прямо из бюретки медленно приливается 2 мл реактива Несслера, перемешивается, доливается водой до метки, снова перемешивается и через 15 минут приступают к колориметрированию на ФЭК. М с толщиной слоя коветы 10 мм за светофильтром № 3.

Все реактивы, применяемые при колориметрическом определении азота должны быть проверены на отсутствие аммиака ("холостой" опыт). Реактив Несслера сохраняют в хорошо закупоренной склянке, защищая от действия света.

При выполнении определения в воздухе лаборатории не должно быть аммиака!

Построение калибровочного графика.

Вносят 5, 10, 15, 20, 35, 40, 45, 50 мл стандартного раствора с содержанием 0,0035 мг/мл N в мерные колбы емкостью 100 мл и точно в такой же последовательности добавляют все реактивы и колориметрируют на ФЭК-М.

Содержание азота вычисляется по формуле:

$$\% = \frac{A \cdot K \cdot 100}{B \cdot 1000}$$

где А - оптическая плотность испытуемого раствора:

К - калибровочный коэффициент выведен из эталонной шкалы, в мг;

100 - пересчет на %;

1000 - для пересчета полученных данных на г.

Стандартный раствор хлористого аммония - А - 0,1N фиксированная NH_4Cl растворяется в бидистиллированной воде, не содержащей аммиака и объем доводится до 1 литра, в 1 мл этого раствора содержится 1,4 мг N.

В - рабочий раствор для построения калибровочной кривой - 2,5 мл раствора А доводят бидистиллированной водой до 1 л. В 1 мл этого раствора содержится 0,0035 мг N.

Титр основного стандартного раствора проверяется формальдегидным методом.

¹х Многочисленными анализами доказано, что желтая краска устойчива в течение часа.

Определение азота объемным методом

Из фильтрата, полученного после мокрого озоления, берется пипеткой 25-40 мл в отгонную колбу Кьельдаля, прибавляется воды около 200 мл и по стенкам колбы добавляется 50 мл 40% раствора NaOH. Выделяющийся азот в виде аммиака поглощается 20 мл 4% раствором H_3BO_3 , налитым в приемник. Через 15-20 минут отгон аммиака заканчивается. Связанный до перехода аммиак в виде $(NH_4)_3BO_3$ титруется 0,02 N раствором серной кислоты до перехода зеленой окраски индикатора Ташира в вишневую.

Таким же образом ведут отгонку "холостого" опыта.

Содержание азота вычисляется по формуле:

$$\% N = \frac{(V - V_1) N \cdot 0.014 \cdot 100}{n}$$

где V - количество серной кислоты, израсходованной на титрование пробы, в мл;

V_1 - количество титрованного раствора серной кислоты, израсходованной на титрование холостого опыта, в мл;

N - нормальность титрованного раствора серной кислоты;

n - навеска растительного материала в испытуемом объеме для перегонки - в г;

0,014 - коэффициент для пересчета мг-экв в г

Реактивы: 1. Серная кислота уд.в. = 1.84; 2. хлорная кислота 50-60%; 3. 2N раствор NaOH, 4. 50% раствор сегнетовой соли; 5. реактив Несслера (продажный); 6. 4% борная кислота; 7. индикатор Ташира - смешивается 40 мл 0,1 % раствора метилового красного с 10 мл 0,1% раствора метилен-голубого, к этому объему прибавляется 50 мл этилового спирта и 100 мл дистиллированной воды; 8. 0,02 N раствор H_2SO_4 .

Определение азота формальдегидным титрованием по методу Серенсена

Ход определения: 25 мл фильтрата переносится в коническую колбу, нейтрализуется сначала 10%, а под конец 0,1N раствором щелочи (освобожденной от следов уголекислоты) до появления слабо-розового окрашивания раствора (в присутствии фенол-фталейна). Избыток щелочи нейтрализуется прибавлением одной капли 0,1N HCl (при этом розовая окраска раствора исчезает), вливается 10 мл 30-40% формалина и образовавшаяся серная кислота оттитровывается 0,1N NaOH до появления розового окрашивания.

Формалин должен быть проверен на отсутствие в нем свободных

кислот, которые легко удаляются при настаивании его с кусочками мрамора в течение нескольких суток.

"Холостой" опыт - 10 мл формалина.

$$\% = \frac{(a - b)N \cdot 100 \cdot 0,014}{N}$$

$$\text{или } \% = \frac{1,4 \cdot N (a - b)}{N}$$

где a - количество щелочи, израсходованной на титрование пробы, в мл;

b - количество щелочи, пошедшей на "холостой" опыт, в мл;

- нормальность щелочи;

n - навеска растительного материала, во взятом для титрации объеме, в г;

0,014 - коэффициент перевода мг-экв N , в г.

12. Определение общего содержания фосфора в растениях

Содержание фосфора в растениях после мокрого сжигания в полученном фильтрате определяется колориметрическим методом по Дениже - вариантом Трруга - Мейера. В основе метода лежит способность фосфат ионов в кислой среде (при определенной концентрации ионов водорода) образовывать с молибдатом желтый комплекс - фосфорномолибденовую гетеро-поликислоту (ФМК) состава $H_7 [P(Mo_2O_4)_2] \cdot 6H_2O$. В случае добавления к раствору ФМК, входящий в ее состав шестивалентный молибден частично восстанавливается до пятивалентного; при этом образуется так называемая фосфорномолибденовая синь, и раствор окрашивается в голубой цвет. По интенсивности образовавшейся голубой окраски определяется содержание фосфора в исследуемом растворе.

Ход определения: из фильтрата, полученного после сжигания образца со смесью серной и хлорной кислот берется 2,0 мл, переносится в мерную колбу емкостью 100 мл, разбавляется водой примерно до 75 мл и в присутствии динитрофенола доводится до определенного pH 10% раствором аммиака (переход окраски раствора от желтого до бесцветного); после этого из бюретки приливается 4 мл раствора Трруга-Мейера, доводится дистиллированной водой до метки, перемешивается, приливая 6 капель восстановителя, немедленно вновь перемешивается и спустя 5-7 минут просматриваются окрашенные растворы на ФЭК-М за светофильтром № 9. Одновременно нужно поставить "холостой" опыт (устойчивость полученной окраски длится 15-30 минут).

Реактивы: а) приготовление комплексобразователя - раствора Трруга-Мейера.

25 г молибденовокислого аммония растворяется в 200 мл дистиллированной воды при нагревании до 60°C. Одновременно в мерную колбу емкостью 1 л приливается 500 мл воды и очень осторожно, по частям колбу без перемешивания, вливает небольшими порциями, с перерывами 280 мл H_2SO_4 (уд. вес 1,84). После остывания обоих растворов в серную кислоту небольшими порциями, при постоянном перемешивании, приливается раствор молибденовокислого аммония; после вторичного остывания общий объем доводят точно до 1 л, перемешивается и переливается в склянку из темного стекла. Раствор сохраняется приблизительно в течение года.

б) Восстановитель. 0,1 г порошка олова всыпают в стеклянную градуированную пробирку емкостью 15-25 мл, приливают 2 мл концентрированного HCl и 4-6 капель 6% раствора $CuSO_4 \cdot 5H_2O$. Погружают пробирку в химический стакан емкостью 200 мл, наполненный дистиллированной водой и кипятят на электрической плитке до полного растворения олова. После этого раствор охлаждают, прибавляют до 100 мл дистиллированной воды и используют для окрашивания испытуемых и стандартных растворов.

Раствор готовят ежедневно^х.

в) Образцовые растворы. А. Основной раствор - 0,1917 г NH_2PO_4 растворяется в дистиллированной воде в мерной колбе емкостью 1 л, добавляется какой-нибудь антисептик, затем доливают водой до метки, перемешивается, переливается в склянку из темного стекла, где он сохраняется длительное время. В 1 мл этого раствора содержится 0,1 мг P_2O_5 .

Б. Рабочий раствор - 100 мл основного раствора в мерной колбе разводят водой до 1 л. Полученный раствор содержит 0,01 мг P_2O_5 в 1 мл. Он используется для построения шкалы стандартных растворов.

Построение шкалы стандартных растворов:

Аликвоты рабочего образцового раствора Б, соответствующие 0,005; 0,01; 0,02; 0,03; 0,04; 0,08; 0,09; 0,09; 0,10 мг P_2O_5 в 100 мл, окрашиваются точно так же, как испытуемые растворы и просматриваются затем на фотоколориметре. Содержание фосфора рассчитывается по формуле:

$$\% P_2O_5 = \frac{С \cdot К \cdot 100}{н \cdot 1000} = \frac{СК}{10 н}$$

^х Для получения порошка олова в чистую фарфоровую чашку помещают металлическое олово, нагревают до начала плавления и в этот момент быстро растирают его пестиком / 6 /.

где C — оптическая плотность испытуемого раствора;
 K — коэффициент калибровочной шкалы P_2O_5 , в мг;
 N — навеска растительного материала во взятом объеме для колориметрирования;
 1000 — пересчет мг P_2O_5 на граммовое значение.

13. Определение калия в растениях пламенно-фотометрическим методом

Для определения содержания калия (и натрия) в растворах широко применяется пламенно-фотометрический метод. При анализе кислотных вытяжек проявляется влияние кислоты (концентрация, характер анионов). Кислоты как правило понижают интенсивность излучения спектра. Анализ таких вытяжек выполняют по эталонам, составленным с учетом концентрации кислоты и ее природы.

Для построения калибровочного графика готовят стандартные растворы А — с содержанием 1000 мг/л $Na^+ K^+$ для этого

2,54г $NaCl$ и 1,907 г KCl растворяется в дистиллированной воде и объем раствора доводится до 1 л.

Шкала рабочего образцового раствора готовится из раствора А согласно указаниям таблиц. Взятый объем стандартного раствора доводится 5% серной кислотой до 250 мл.

Таблица 4

Шкала рабочего стандартного раствора для определения натрия и калия пламенно-фотометрическим методом

№ колбы								
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Na^+, K^+ мг — 250 мл								
1000	800	400	200	100	80	40	20	10
объем стандартного раствора в 250-ти мл колбе, мл								
250	200	100	50	25	20	10	5	2,5

14. Определение белкового азота

Азотистые вещества растений. Азотистые соединения, встречающиеся в растениях, чрезвычайно разнообразны. Наиболее распространенные соединения могут быть распределены на группы: белковые вещества, аминокислоты и их амиды, основания, соли аммиака и азотной кислоты.

Белковым веществам принадлежит первое место по количеству и значению. Соединения этих групп бывают разнообразны как по составу, так и по свойствам.

Наряду с белковыми веществами в растениях встречаются, хотя и не всегда в одинаковых количествах и другие соединения. Такими соединениями являются, прежде всего аминокислоты (лейцин, аланин, тирозин и др.) и амиды аминокислоты (аспарагин, глутамин).

К общераспространенным азотистым веществам растений нужно отнести также азотистые соединения основного характера.

Часть азотистых соединений встречается в растениях в соединении с углеводами в виде гликозидов. В зеленых растениях, особенно собранных в молодом возрасте, вместе с белками содержатся и другие азотистые соединения, причем относительное количество небелковых соединений уменьшается с возрастом растений.

Методы определения белкового азота довольно разнообразны, но по существу сводятся к тому, что белковые вещества переводятся в нерастворимые соединения, в которых и определяется количество азота после отмывания от осадка других азотистых соединений.

Небелковые соединения азота (нитраты, амиды, аммиак, аминокислоты и органические соединения) остаются в растворе после осаждения белковых веществ и переходят в фильтрат при отмывании белка от избытка осадителя. В литературе приводятся разные варианты сжигания небелковой фракции при определении небелкового азота в растениях.

Принцип метода. Белковые вещества способны переводиться в нерастворимые в воде соединения и тем отделяться от различных других азотистых соединений. Даже простое нагревание свертывает, переводит в осадок многие из белков. Более полно и быстрее этот же процесс идет при действии на растительные материалы, содержащие белковые вещества, солями и гидроксилами тяжелых металлов. Этим путем белки осаждаются, а прочие азотистые соединения остаются в растворе и легко могут быть вымыты из него.

Определение белкового азота по способу Барнштейна

В лабораторной практике до сих пор основным методом определения белкового азота считается метод Барнштейна. Осаждение белков достигается основной солью сернокислой меди — $\text{CuSO}_4 \cdot \text{Cu}(\text{OH})_2$. Отмытый от солей и растворимых азотистых веществ осадок белка сжигается с H_2SO_4 по методу Кьельдаля, с последующим отгоном азота в виде аммиака и определением его путем связывания серной или борной кислотой. Найденное количество азота пересчитывается на белок (табл. 5).

Ход анализа. Осаждение белков: в химический стакан емкостью 50–100 мл берется 0,2 г тонко измельченного растительного образца, осторожно по стенкам стакана прибавляется 10 мл дистиллированной воды и нагревается до кипения (растительные материалы, богатые крахмалом, не кипятят, ввиду затруднения дальнейшей фильтрации). Осторожно перемешивается стеклянной палочкой (безрезинового наконечника), затем добавляется 10 мл 6,0% раствора $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, опять перемешивается, а затем, при помешивании, небольшими порциями туда же приливается по 10 мл 2,5% раствора едкого натра. Образуется основная соль сернокислой меди $\text{CuSO}_4 \cdot \text{Cu}(\text{OH})_2$. Смесь этих реактивов рассчитана таким образом, чтобы не возникла щелочная реакция (чему препятствует находящийся в этой смеси избыток медного купороса); тем не менее лакмусовой бумажкой проверяют реакцию в стакане ($\text{pH}=7,0$). Она не должна быть щелочной, так как это может повлечь за собой растворение свернувшегося белка.

В стакан выпадает осадок комплекса белковых молекул и меди. Пока он окисляется (не менее одного часа, обычно оставляется на ночь, но ни в коем случае не больше), обычно оставляется на ночь, но ни в коем случае не больше), подготавливают фильтрование. Для этого берут узкогорлую плоскодонную колбу емкостью 250–300 мл, вставляют в нее воронку (диаметром в 8–10 см) с фильтром так, чтобы края его были на 0,5–1,0 см ниже краев воронки. Отстоявшуюся над осадком жидкость сливают на фильтр по стеклянной палочке, а осадок промывают в стакане несколько раз декантацией горячей водой. Затем осадок без потерь переносят на фильтр и продолжается промывание теплой водой до тех пор, пока последняя проба фильтрата не перестанет давать муть с хлористым барием. Это — реакция на ион SO_4^{2-} медного купороса в одновременное испытание на полноту отмытия небелковых азотистых веществ. Фильтр с осадком белковых веществ переносится в колбу Кьельдаля, озоляется смесью серной и хлорной кислоты. После

Сжигания азот определяется перегонкой. Содержание белкового азота вычисляется умножением полученного числа на коэффициент 6,25 (для зеленых растений) или 5,75 (для зерновых).

Определение белкового азота после осаждения трихлоруксусной кислотой

Навеска хорошо измельченного материала переносится в стакан емкостью 100 мл. добавляется 25 мл воды и нагревается до кипения при помешивании стеклянной палочкой. После нагревания проводится осаждение белков 5% трихлоруксусной кислотой (CCl_3COOH). Для этого в стакан при помешивании добавляется 5 мл 50% трихлоруксусной кислоты и после отстаивания в течение 30-40 минут содержимое стакана фильтруется через беззольный фильтр. Стакан и осадок на фильтре промываются несколькими порциями 2% ТХУ. По окончании фильтрования фильтр вместе с воронкой переносится в термостат и высушивается в течение 1-2 часов при температуре 50-60°C. Потом фильтр вместе с осадком переносится в колбу Кьельдаля, приливается 10 мл смеси ($\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{HClO}_4$) кислот и проводится сжигание. После сжигания азот определяется перегонкой или колориметрически.

Вычисление результатов проводится так же, как и при определении общего азота.

Реактивы: H_2SO_4 уд. вес 1,84; HClO_4 - 57% трихлоруксусная кислота 50%.

15. Определение небелкового азота

Сжигание небелковых веществ. К фильтрату в колбе (от осадителя белковых веществ и промывных вод) прибавляется 5 мл смеси серной и хлорной кислот (10:1) и выпаривается до сгущения объема около 5 мл (обычно при наличии органических соединений получается густая черная масса). После этого колба закрывается втулкой и продолжается сжигание до обесцвечивания полученной жидкости до голубовато-зеленого оттенком. Если в исследуемом веществе можно ожидать заметное содержание нитратного азота, то озоление надо вести с фенол-серной кислотой (для восстановления нитратов)^X.

^X Фенол-серная кислота готовится растворением 40 г чистого фенола в серной кислоте (уд. вес 1,84) и доводится той же кислотой до объема в 1 л.

Таблица 5
Таблица для пересчета азота на белок
(N-6.25)

Азот	Белок	Азот	Белок	Азот	Белок	Азот	Белок
0,10	0,63	2,19	13,13	4,1	25,63	6,1	38,13
0,20	1,25	2,29	13,75	4,2	26,25	6,2	38,75
0,30	1,88	2,39	14,38	4,3	26,88	6,3	39,38
0,40	2,50	2,49	15,00	4,4	27,50	6,4	40,00
0,50	3,13	2,59	15,63	4,5	28,13	6,5	40,63
0,60	3,75	2,60	16,25	4,6	28,75	6,6	41,25
0,70	4,38	2,79	16,88	4,7	29,38	6,7	41,88
0,80	5,00	2,89	17,50	4,8	30,00	6,8	42,50
0,90	5,63	2,90	18,33	4,9	30,63	6,9	43,13
1,00	6,25	3,00	18,75	5,0	31,25	7,0	43,75
1,10	6,88	3,10	19,38	5,1	31,88	7,1	44,38
1,20	7,50	3,20	20,00	5,2	32,50	7,2	45,00
1,30	8,13	3,30	20,63	5,3	33,13	7,3	45,63
1,40	8,75	3,40	21,25	5,4	33,75	7,4	46,25
1,50	9,38	3,50	21,88	5,5	34,38	7,5	46,88
1,60	10,00	3,60	22,50	5,6	35,00	7,6	47,50
1,70	10,63	3,70	23,13	5,7	35,63	7,7	48,13
1,80	11,25	3,80	23,75	5,8	36,25	7,8	48,75
1,90	11,88	3,90	24,38	5,9	36,88	7,9	49,38
2,00	12,50	4,00	25,00	6,0	37,50	8,0	50,00

Содержание небелкового азота после сжигания определяется перегонкой, как указано при определении общего азота.

16. Определение общего содержания серы в растениях

Определение общего содержания серы в растительных веществах основано на озолении навески концентрированной азотной кислотой с добавлением перекиси водорода или бертолевой соли, высвобождающих при своем разложении атомарный кислород, что ускоряет озоление и позволяет вести его при невысокой температуре. В условиях повышенной температуры возможны потери серы в виде ее окислов.

Универсальным методом определения серы в почках и растениях считается метод Р.Х.Айдиняна .

В растворе после озоления вся сера будет содержаться в виде серной кислоты и ее солей. Из раствора осаждают и удаляют кремневую кислоту, а затем осаждают SO_4^{2-} ионы хлористым барием.

Определение иона SO_4^{2-} можно проводить весовым, объемным или нефелометрическим методами. Весовое определение сульфатов при небольшом их содержании связано с затруднениями: присутствующие в растворе сульфаты железа, а также щелочных и щелочноземельных металлов осаждаются вместе с осадком $BaSO_4$ и могут завышать результаты анализа. Для получения точных данных требуется дополнительная подготовка раствора к анализу. Таким образом, весовой метод требует значительной затраты времени.

Определение серы в присутствии металлоиндикатора нитхромазо

При малом содержании ионы SO_4^{2-} в титруемой пробе рекомендуют проводить объемное определение путем титрования сульфатов раствором хлористого бария с индикатором нитхромазо.

Титрование с нитхромазо проводится при pH 1,7-2,0 в 50% этаноловой или ацетоновой среде. В этом случае определению мешают присутствие больших количеств ионов Ca^{2+} , K^+ , Na^+ , NH_4^+ , которые с нитхромазо также дают цветную реакцию. Содержание в титруемом объеме иона SO_4^{2-} должно находиться в пределах 0,04-2,0 мг S (в пересчете на ион SO_4^{2-} - 0,16-69 мг в присутствии 0,2-2,0 мг фосфора). Большее содержание иона SO_4^{2-} для титрования брать не следует ввиду выпадения в осадок образующегося $BaSO_4$, который мешает установлению точки эквивалентности.

Металлоиндикатор нитхромазо имеет фиолетовую окраску, с ионами Ba^{2+} он образует прочный комплекс голубого цвета. Точка эквивалентности отмечается четким переходом фиолетовой окраски

в голубую, не изменяется в течение 1-2 минут.

Титрование раствором BaCl_2 следует проводить медленно, по каплям, особенно в начале, тщательно перемешивая титруемую пробу. Иногда появляющаяся голубая окраска от первых двух капель раствора BaCl_2 при энергичном и постоянном перемешивании переходит в фиолетовую или сине-фиолетовую, и дальнейшее изменение окраски идет довольно быстро.

Для удаления катионов, мешающих определению, исследуемый раствор перед титрованием пропускается через ионнообменную смолу КУ-2 или КУ-2-8 в H^+ форме.

При наличии значительных количеств кальция для установления $\text{pH} = 1,7-2,0$ вместо HCl добавляется $0,1 \text{ N}$ раствор щавелевой кислоты. Если испытуемый раствор окрашен, его предварительно обесцвечивают с 2-3 каплями H_2O_2 .

Ход анализа. В коническую колбу емкостью 50-100 мл помещают 10-15 мл испытуемого раствора, предварительно пропущенного через катионит, проверяется реакция среды, вносят одну каплю $0,1\%$ водного раствора нитхромазо, прибавляется ацетон /или спирт/ в количестве равном объему титруемого раствора и титруется $0,02 \text{ N}$ раствором BaCl_2 до перехода фиолетовой окраски раствора в голубую. При определении малых количеств сульфатов титрование следует останавливать после достижения промежуточной окраски индикатора.

Содержание серы вычисляется по формуле:

$$S \% = \frac{(V - V_1) N \cdot 0,016 \cdot 100}{n} :$$

где V - количество раствора BaCl_2 - израсходованное титрование пробы, в мл;

V_1 - количество раствора BaCl_2 - израсходованное на титрование "холостого" опыта, в мл;

N - нормальность раствора BaCl_2 ;

$0,016$ - мг-экв S для пересчета в г;

n - навеска во взятом объеме, в г.

Титр BaCl_2 устанавливается по титрованному раствору MgSO_4 .

Реактивы: 1. $0,02 \text{ N}$ раствор хлористого бария.

2. $0,02 \text{ N}$ раствор трилона Б.

3. $0,02 \text{ N}$ раствор хлористого магния.

4. $0,2\%$ водный раствор нитхромазо.

5. Спирт или ацетон.

17. Определение хлора в растительном материале с применением меркуриметрического титрования по А.А.Поповцевой

Хлор в растениях содержится в небольшом количестве. Его содержание находится в прямой пропорциональности от содержания в почве и увеличивается при внесении хлорсодержащих удобрений. В растительном веществе количество хлора составляет от сотых до десятых долей процента на сухое вещество.

Хлор не входит в состав органического вещества растений, поэтому значительная часть его извлекается водной вытяжкой или кислотой.

Большинство водных вытяжек из растительного материала бывает темнокрашенным и титрование их с применением внутреннего индикатора проводить невозможно.

Для удаления органического вещества, придающего вытяжкам окраску, можно применить неполное озоление растительного материала при $-200-300^{\circ}\text{C}$. При этой температуре потерь хлора не происходит, а вытяжки из обугленного растительного материала получаются бесцветными. Конечное определение хлор-иона в вытяжках проводится меркуриметрическим титрованием. Метод основан на связывании ионов Hg^{2+} ионами Hg^{2+} в малодиссоциированную соль HgCl_2 : $\text{H}^+ + \text{Cl}^- \rightarrow \text{HCl}$; $\text{HgCl}^+; \text{HgCl} + \text{Cl} = \text{HgCl}_2$.

Титрование проводится с применением индикатора дифенилкарбазона, который в точке эквивалентности образует с ионами ртути осадок интенсивно синего цвета. Большое значение при меркуриметрическом определении хлоридов имеет величина pH титруемого раствора. При высоком значении pH получаются заниженные результаты, а при низкой pH — завышенные.

Оптимальной кислотностью при определении хлора является pH = 3,0-3,5. Для контроля оптимальной pH в точке эквивалентности при титровании применяется индикатор бромфеноловый синий, а в целом — смешанный индикатор дифенилкарбазон — бромфеноловый синий. При содержании хлора в титруемой пробе больше 1,8 мг титрование проводится в водной среде, а меньше 1,8 мг — в спиртовой с целью уменьшения диссоциации хлорной ртути. Преимуществом этого метода, по сравнению с аргентометрическим, является то, что он дает резкий переход в точке эквивалентности, кроме того, не расходуется дорогостоящий реактив AgNO_3 .

Ход определения. Навеска растительного материала, растертого до тонкого помола на электрической мельнице — взятая на аналитических весах в количестве 5-10 г — осторожно озоляется в

фарфоровом тигле на электрической плитке.

Озоленный материал заливается дистиллированной водой 1:10 (по отношению к неозоленному материалу) и оставляется на 20-30 минут, время от времени помешивается стеклянной палочкой. Вытяжка фильтруется через беззольный фильтр. Для титрования берется 20 мл фильтрата в фарфоровые чашки (емкостью 25 мл) и выпаривается досуха на водяной бане. Остаток в чашке растворяется в 0,5 мл 0,05N раствора HNO_3 , а затем добавляется этилового спирта и 3-4 капли смешанного индикатора дифенилкарбазона - бромфенолового синего.

Если после добавления индикатора раствор будет синим, добавляют по каплям 0,05N раствор HNO_3 до перехода окраски в желтую. Если раствор после добавления индикатора будет желтым, добавляется по каплям 0,05N раствор NaOH до появления синего цвета, а затем по каплям 0,05N раствор HNO_3 до перехода окраски раствора в желтую.

Подготовленная таким образом проба титруется из микробюретки 0,005-0,007N раствором $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ при энергичном перемешивании титруемой пробы палочкой до перехода желтой окраски в фиолетовую.

При большом содержании хлора ($> 1,8$ мг) титрование проводится в водной среде. В этом случае берется пипеткой 5-10 мл фильтрата в коническую, широкогорлую колбу на 100 мл, доводится объем до 50 мл дистиллированной водой, добавляется 10-15 капель смешанного индикатора. Если раствор окрашивается в синий цвет, к нему добавляют по каплям 0,05N раствора HNO_3 до перехода его в желтый цвет. Если проба после добавления индикатора становится желтой, добавляется по каплям 0,05N NaOH до перехода синей окраски в желтую. Затем, как в первом, так и во втором случае, добавляют 0,5 мл 0,05N раствора HNO_3 и титруют 0,025N титрованным раствором $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ до перехода желтой окраски розовую к фиолетовой. Подобным же образом титруют "холостую" пробу.

Содержание хлор иона (в %) рассчитывается по формуле:

$$\% \text{Cl}^- = \frac{A \cdot N \cdot 0,035 \cdot 100}{n};$$

где A - количество раствора $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$, пошедшее на титрование, мл;

N - нормальность раствора $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$;

0,035 - коэффициент перевода мг-экв хлора, г;

n - навеска растительного образца, соответствующая количеству раствора, взятого на титрование, г;

- Реактивы: 1. 0,05N раствор HNO_3 - готовится из фиксального 0,1N раствора соответствующим разбавлением.
2. 0,05N раствор - NaOH . 2 г NaOH растворяется в 1 л дистиллированной воды.
3. Исходный раствор $\text{H}_3(\text{NO}_3)_2$ - 0,1N.
16,68 соли $\text{H}_3(\text{NO}_3)_2 \cdot 0,5 \text{H}_2\text{O}$ х.ч. растворяется в 100 мл дистиллированной воды, содержащей 2,0-2,5 мл концентрированной HNO_3 , и доводят до 1 л. Раствор фильтруют. Разбавлением исходного раствора дистиллированной водой готовят растворы $\text{H}_3(\text{NO}_3)_2$ меньшей концентрации.
0,005N раствор $\text{H}_3(\text{NO}_3)_2$ - 50 мл 0,1 раствора разбавляется дистиллированной водой до 1 л.
4. Смешанный индикатор. На аналитических весах взвешивают 0,25 г кристаллического дифенилкарбазона, х.ч., и 0,025 г кристаллического бромфенолового синего. Растворяют оба индикатора в 50 мл спирта. Раствор хранится в темной клетке. Устойчив в течение одного месяца.
5. Спирт этиловый 96%-ый.

18. Определение кальция и магния в золе растений комплекссонометрическим методом

Классические методы определения кальция и магния в последние годы вышли из аналитической практики и почти повсеместно заменены комплекссонометрическим титрованием. Высокая точность и воспроизводимость комплекссонометрических определений кальция и магния подтверждена многочисленными исследованиями.

Определение кальция и магния в различных веществах комплекссонометрической титрацией с трилоном Б обычно применяется как способом прямой так и обратной титрации. Определение кальция и магния в почвах, растениях и удобрениях впервые применено Ченгом И брейем [47], а затем, с некоторым усовершенствованием, другими исследователями.

Определение кальция и магния затрудняется наличием большого количества железа, алюминия и фосфора в титруемом объеме. Для устранения мешающего влияния этих элементов применяется метод обратной титрации. Сущность обратной титрации заключается в том, что к исследуемому солянокислому раствору добавляется избыточное количество титрованного раствора трилона Б, который прочно связывает в комплекс ионы Ca^{2+} и Mg^{2+} . Последующее подщелачивание

раствора до $pH=12-13$ не вызывает образования осадка фосфата кальция. Присутствующие в растворе ионы других металлов также могут образовывать комплексы оксалата, но константы, устойчивости их ниже констант устойчивости комплексов оксалатов кальция и магния и при титровании избытка трилона Б хлористым кальцием или магнием они разрушаются. При обратном титровании мешающие элементы связываются в комплекс с трилоном Б и реагируют с металлоиндикатором очень медленно или совсем не реагируют. Таким образом, обратное титрование может быть закончено до того, как поступает обесцвечивание металлоиндикатора.

Ход определения. Обработка сырой золы для анализа.

"Сырая" зола в количестве 0,1-0,2 г помещается в фарфоровую чашку (диаметром 5-7 см), осторожно смачивается в 1 мл дистиллированной воды и затем по каплям прибавляется 2 мл раствора соляной кислоты (1:1), выпаривается досуха на водяной бане. К сухому остатку в чашке прибавляется 2 мл HCl (1:1); 3 мл горячей воды, все перемешивается и сразу фильтруется через беззолый фильтр (белая лента). Фильтр промывается горячей водой до объема фильтрата 100 мл. Фильтр, в котором находится кремневая кислота, нерастворимая в соляной кислоте, и остатки песка, помещаются в тигель, высушиваются, прокаливаются, охлаждаются и взвешиваются. Таким образом устанавливается содержание песка и кремнекислоты во взятой навеске.

В полученном солянокислом растворе золы определяется содержание кальция и магния прямым или обратным комплексонометрическим методом.

а) Прямое комплексонометрическое титрование кальция и магния

Определение кальция. В колбу емкостью 250 мл берется пипеткой 10-20 мл основного солянокислого раствора золы, добавляется дистиллированная вода до объема 50 мл, 1-2 капли 0,2% раствора индикатора малахитового зеленого и нейтрализуется 5 М раствором КОН до перехода окраски раствора от бирюзового до бесцветного, после этого сразу прибавляется избыток щелочи в количестве 2 мл, добавляется сухая смесь мурексида с сахарозой и постоянно-интенсивным перемешиванием титруется 0,01N раствором трилона Б до перехода окраски раствора от розового в лиловую.

Вместо мурексида можно применять и флуорексон, при котором переход окраски раствора с желтоватой, зеленой люминесценцией становится чисто розовый, без зеленой люминесценции. Параллельно берется "слепая" проба для проверки наличия кальция в применяемых реактивах.

Содержание кальция в "сырой" золе вычисляется по формуле:

$$\% \text{ Ca} = \frac{V \cdot N \cdot 100 \cdot 0,02}{n} \quad \text{или} \quad \% \text{ Ca} = \frac{2 \cdot V \cdot N}{n}$$

где V - количество раствора трилона Б, израсходованного на титрование, в мл;

N - нормальность раствора трилона Б;

0,02 - коэффициент перевода мг-экв кальция, в г;

n - навеска сырой зола в определяемом объеме, в г.

Определение магния. Комплексонометрическое титрование магния можно проводить при pH = 9-10 с металлоиндикатором ЕТ-00. При этих условиях кальций титруется вместе с магнием. Определив оттитрованный расход трилона Б на титрование кальция по разности находят объем трилона Б, пошедшего на титрование магния.

Ход определения. В колбу емкостью 250 мл берется пипеткой 10-20 мл основного солянокислого раствора зола, объем доводится дистиллированной водой до 50 мл и в присутствии 1-2 капель 0,1% раствора метиленово-красного нейтрализуется 5М раствором КОН (обычно требуется 1-2 капли щелочи) до перехода окраски раствора от розового до желтоватого. Затем добавляется из бюретки 2 мл хлоридно-аммиачного буферного раствора и в присутствии сухой смеси ЕТ-00 с сахарозой, при энергичном перемешивании титруется 0,01 N раствором трилона Б до перехода окраски от винно-красной до чисто синеголубого цвета.

Содержание магния в "сырой" золе растений вычисляется по формуле:

$$\% \text{ Mg} = \frac{(V_1 - V) \cdot N}{n} \cdot 100 \cdot 0,012 \quad \text{или} \quad \% \text{ Mg} = \frac{1,2 (V_1 - V) \cdot N}{n}$$

где V_1 - количество трилона Б, затраченного на титрование суммы (Ca + Mg), в мл;

V - количество трилона Б, затраченное на титрование кальция, в мл;

N - нормальность раствора трилона Б, в мл;

0,012 - граммовое значение мг-экв магния;

n - навеска "сырой" зола в определяемом объеме, в г.

б) Обратное комплексонометрическое определение кальция и магния

Определение кальция. В колбу емкостью 250 мл берется 10-20 мл солянокислого раствора "сырой" зола, объем доводится дистиллированной водой до 50 мл и в присутствии 1-2 капель малахито-

вого зеленого избыток кислоты нейтрализуется 5М раствором КОН, после чего сразу из бюретки прибавляется 10-20 мл 0,05 N раствора трилона Б и уже через 2-5 минут (можно через сутки продолжить) добавляется 5 мл 5М раствора КОН, сухой смеси мурексида (при этом цвет раствора становится лиловым) и по каплям, при энергичном перемешивании избыток трилона Б титруется 0,05 N раствором хлористого кальция до перехода окраски в розовую. В отдельной пробе берется "контроль" - для этого 10-20 мл 0,05 N раствора трилона Б разбавляется дистиллированной водой до 50 мл, прибавляется 5 мл 5 М раствора КОН и в присутствии сухой индикаторной смеси мурексида, титруется 0,05 N раствором хлористого кальция до перехода окраски раствора от лилового в розовый.

Содержание кальция в "сырой" золе при обратной титрации вычисляется по формуле:

$$\% \text{Ca} = \frac{(V - V_1) \cdot N \cdot 100 \cdot 0,02}{n} \text{ или } \% \text{Ca} = \frac{2N(V - V_1)}{n}$$

где: V - количество раствора хлористого кальция, израсходованного на титрацию трилона Б при обратной титрации (контроль), в мл;

V_1 - количество раствора хлористого кальция, израсходованного на связывание трилона Б в образце, в мл;

N - нормальность раствора хлористого кальция;

n - навеска "сырой" зола во взятом объеме, в г.

Определение магния. В колбу емкостью 250 мл берется 10-20 мл солянокислого раствора зола, объем доводится дистиллированной водой до 50 мл. Затем в присутствии 1-2 капель метила-красного избыток кислоты нейтрализуется 5М раствором КОН, добавляется 10-20 мл 0,05 N раствора трилона Б и спустя 2-5 минут прибавляется 2 мл хлоридно-аммиачного буфера и в присутствии смеси сухого индикатора ЕТ-00 титруется избыток трилона Б раствором 0,05 N MgCl_2 до перехода окраски раствора от синеголубого до чистого винно-красного цвета. В отдельной пробе берется "контроль". Для этого 10-20 мл 0,05 N раствора трилона Б разбавляется дистиллированной водой до 50 мл, прибавляется 2 мл хлоридно-аммиачного буфера и в присутствии ЕТ-00 титруется 0,05 N раствором хлористого магния.

Содержание магния в "сырой" золе вычисляется по формуле:

$$\% \text{Mg} = \frac{[(V_2 - V_3) - (V - V_1)] \cdot N \cdot 100 \cdot 0,012}{n}$$

$$\text{или } \% \text{Mg} = \frac{1,2 \cdot N [(V_2 - V_3) - (V_4 - V_1)]}{n}$$

где V_1 - количество раствора хлористого магния, израсходованного при обратной титрации трилона Б ("контроль"), в мл;
 V_2 - количество раствора хлористого магния, израсходованного на титрацию несвязанного трилона Б при обратной титрации суммы $(Ca + Mg)$, в мл;
 $(V - V_1)$ - количество раствора $CaCl_2$, израсходованного на титрацию несвязанного трилона Б при обратной титрации кальция, в мл;

N - нормальность раствора хлористого магния;

n - навеска "сырой" зола в определяемом объеме, в г.

Расчетная формула упрощается, если обозначить $(V_2 - V_3) = A$

$(V - V_1) = B$

$$\% Mg = \frac{12 \cdot N \cdot (A - B)}{n}$$

Необходимые реактивы: 1. 0,1N раствор трилона Б - 18,61 г трилона Б растворяется в 1 л дистиллированной воды.

0,01 и 0,05N раствора готовится разбавлением 0,1N раствора трилона Б.

2. 0,05N раствор хлористого кальция -

2,5 г $CaCO_3$ х.ч. растворяется в 3-5 мл соляной кислоты (уд. вес 1,19), после чего дистиллированной водой доводится до 1 л.

3. 0,05N раствор хлористого магния - 2,108 г $MgCO_3$ х.ч. растворяется в 3-4 мл соляной кислоты, доводят дистиллированной водой до объема 1 л.

4. 0,2 % спиртовой раствор малахитового зеленого и метилкрасного.

5. 5M раствор КОН - 280 г КОН х.ч. растворяется в 1 л дистиллированной воды, pH = 11-13.

6. Хлоридно-аммиачный буферный раствор - pH = 9-10 54 г NH_4Cl растворяется в 200 мл воды, прибавляется 350 мл 25% NH_4OH и объем смеси доводится дистиллированной водой до 1 л.

7. Мурексид - 0,1 г индикатора смешивается с 10 г сахарозы (прибавление сахарозы препятствует осаждению кальция).

8. Хромоген черный - ET-00 - 0,1 г индикатора смешивается с 10 г сахарозы.

19. Определение железа в золе растений комплексонометрическим методом

Трилон Б образует с трехвалентным железом устойчивое внутри-комплексное соединение (при pH = 1-3). О конце реакции судят по исчезновению окраски роданидного или сульфосалицилатного комплекса железа. В слабокислой среде определение железа не мешают ионы кальция, магния, марганца, алюминия, а также кремневая кислота.

Ход определения. Из солянокислого фильтрата, полученного от "сырой" зола, в конические колбы берется 25-50 мл, прибавляется 2 мл 10% раствора сульфосалициловой кислоты, подогревается до 60°C и титруется 0,01N раствором трилона Б до исчезновения фиолетовой окраски.

Содержание железа в "сырой" золе вычисляется по формуле:

$$\% \text{ Fe } 3+ = \frac{V \cdot N \cdot 100 \cdot 0,028}{n}$$

где V - количество трилона Б, в мл;

N - нормальность трилона Б;

0,028 - граммовое значение мг-экв Fe³⁺, в г;

n - навеска "сырой" зола во взятом объеме, в г.

Определение железа колориметрическим методом

В зольном растворе определение железа проводится колориметрическим методом. Для колориметрического определения железа было предложено много индикаторов. Среди них очень широко применяется сульфосалициловая кислота. Благодаря своей доступности, сравнительно высокой чувствительности и достаточной избирательности к железу, эта кислота широко используется в анализе различных железосодержащих объектов, а также в качестве металлоиндикатора при комплексонометрическом определении железа.

Железо (III) образует с сульфосалициловой кислотой в зависимости от pH среды три комплексных соединения: при pH 1-3 образуется фиолетовый комплекс моносудфосалицилата железа, при pH 4-8 преобладает красный комплекс и при pH = 8-11,5 возникает трисульфосалицилат железа желтого цвета.

Ход определения. Из солянокислого фильтрата "сырой" зола в 50-ти миллилитровой мерной колбе берется 10-20 мл и прибавляется 5 мл раствора 25% сульфосалициловой кислоты, нейтрализуется аммиаком (1:1) до появления желтой окраски раствора, добавляется избыток раствора аммиака 5 мл, доводится дистиллированной водой до метки, перемешивается и через 10 минут измеряется оп-

оптическая плотность в кивете толщиной слоя 20 мм за светофильтром
3. Количество железа находят по калибровочному графику, построенному по стандартному раствору соли железа.

Содержание железа в "сырой" золе вычисляется по формуле:

$$\% \text{ Fe} = \frac{A \cdot K \cdot 100}{n \cdot 1000} ;$$

где А - оптическая плотность испытуемого раствора

К - калибровочный коэффициент

н - навеска "сырой" золи во взятом объеме, в г.

Реактивы: 1. 0,01N раствор трилона Б.

2. 25% раствор сульфосалициловой кислоты - 25 г ССК растворяется в 100 мл дистиллированной воды и доводится 10% раствором аммиака до pH, 2,0 по индикаторной бумаге, тропеолина - 00.

3. Образцовый раствор железа - А - 0,0503 г соли $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ растворяется в дистиллированной воде, прибавляется серная кислота до полного растворения и наполняется до метки дистиллированной водой. Раствор содержит в 1 мл 0,1 мг Fe^{3+} .

Раствор Б - для построения калибровочной кривой получается из раствора А разбавлением в 10 раз.

Для построения калибровочной кривой или выведения калибровочного коэффициента из раствора Б берется в мерные колбы емкостью 50 мл соответственно: 0,005; 0,01; 0,02; 0,03; 0,04; 0,05; 0,06; 0,07; 0,08; 0,09; 0,10 мг/ Fe^{3+} в 50 мл.

20. Определение марганца в золе растений

Наиболее распространенным формальдоксимным методом определения марганца в различных объектах является колориметрический метод, основанный на изменении интенсивности окраски марганцевой кислоты, образующейся при окислении Mn^{2+} до MnO_4 персульфатом аммония в сернокислом растворе, содержащем азотнокислое серебро и фосфорную кислоту.

Определение марганца с помощью формальдоксима менее сложно и значительно чувствительнее персульфатного метода. С этим реагентом образуют окрашенные комплексы не только Mn , но и Fe , Cu , Co и Ni .

Окрашенный комплекс с железом разрушают трилоном Б и гидроксиламином, Cu , Co и Ni в почвах и растениях и их комплексы окрашены более слабо.

Для образования комплекса необходима щелочная реакция, которую создают хлоридо-аммиачным буфером или аммиаком.

Ход определения. Из солянокислого раствора "сырой" золы в мерную колбу емкостью в 50 мл берется 10-20 мл, прибавляется 20 мл 1% раствора аскорбиновой кислоты, 5 мл формальдоксима, 5 мл 10% раствора NH_4OH . Перемешивая раствор после прибавления каждого реактива, объем доводится до метки дистиллированной водой и снова перемешивается. Интенсивность полученной окраски измеряется на ФЭК-М, в кювете с толщиной слоя 30 мм за светофильтром № 6 (устойчивость полученной окраски длится 6-7 часов).

Содержание марганца вычисляется по формуле:

$$\% \text{ Мп} = \frac{A \cdot K \cdot 100}{n \cdot 1000}$$

где А - плотность испытуемого раствора на ФЭК-М;

К - коэффициент выведен из эталонного ряда, Мп в мг;

н - навеска "сырой" золы во взятом объеме, в г.

Реактивы: 1. Формальдоксим. Растворяется 12 г солянокислого гидроксилamina в 70 мл воды, прибавляется 6 мл 36% формалина и доводится водой до 100 мл. Готовят в день анализа.

2. Маскирующий раствор: а) готовят 1% раствор трилона Б (10 г в 1 л воды). В день анализа в этот раствор вносят 60 г солянокислого гидроксилamina и перемешивают, б) аскорбиновая кислота 1% (свежеприготовленная).

3. Стандартный раствор марганца. Фиксанал $0,1\text{N KMnO}_4$ растворяют в 500 мл воды, в которую предварительно внесено 50 мл концентрированной H_2SO_4 . Затем раствор обезбещивают, прибавляя по каплям 10% раствор сульфата натрия; далее кипячением полностью удаляют сернистый газ, переносят раствор в мерную колбу, емкостью в 1 л и по охлаждению доводят до метки. Раствор содержит 1,1 мг/мл Мп, это запасной раствор, из которого готовят рабочие растворы.

4. Рабочий стандартный раствор. Отбирают 10 мл запасного стандартного раствора $\text{KMnO}_4 (0,1\text{N})$, помещают в мерную колбу на 1 л доливают до метки водой. Раствор содержит 0,011 мг/мл Мп (30,001н). В 50-ти миллилитровые мерные колбы отбирается от 0,2; 0,5; 1,0; 1,5; 2; 2,5; 3,0; 3,5; 4,0; 4,5-5,0 мл рабочего раствора прибавляется 25 мл воды, 2 мл формальдоксима, 5 мл 10% раствора NH_4OH , перемешивается и

доводится водой до метки. Полученная шкала стандартного раствора Mn сравнивается на ФЭК-М, толщиной кюветы 30 мм за светофильтром № 6.

Օ.Բ. ԳԱՍՊՐԻԱՆ

ՀԱՅՏԱՐԱՐԱԿԱՆ ԲՈՒԾՈՒ ԲՆԻՄԱԿԱՆ ՎԵՐԼՈՒԵՈՒԹՅԱՆ ՎԵՐԱԲԵՐՁՈՒ

Ամփոփում

Երազրված է N, P, K, Ca, Mg, Fe, Mn, S, տարրերի որոշումը կոլորիմետրիկ, կոմպլեքսոմետրիկ և բոց-սպեկտրոֆոտոմետրիկ մեթոդներով: Արագընթաց մեթոդների ներդրումը բարձրացնում է աշխատանքի արտադրողականությունը, պակասեցնում է օգտագործվող վնասակար և թունավոր նյութերի քանակը և կրճատում է էլեկտրատեներգիայի ծախսը: /Հրահանգը կազմված է հոգևորություն լաբորանտների/:

O.B. GASPARTYAN

RECOMMENDATIONS ON THE CHEMICAL ANALYSIS OF PLANTS

Summary

We have narrated the determination of N, P, K, Ca, Mg, Fe, Mn, and S by the colorometric, complexometric, flame-spectrophotometric methods. The application of these speedy methods increases a great deal the productivity of the analysis of those elements.

Л и т е р а т у р а

1. Агрохимические методы исследования почв. Изд-во "Наука", М., 1975.
2. Александрова Л.Н. Методика зольного анализа. В сб. "Проблема советского почвоведения". Изд-во АН СССР, М.-Л., 1949.
3. Айдинян Р.Х., Иванова М.С., Соловьева Т.Г. Методы извлечения и определения различных форм серы в почвах и растениях. М., 1975.

4. Алексеева Д.М. Пламенно-фотометрический и трилонометрические методы определения кальция в растениях. Почвоведение, № 5, 1965.
5. Анализ минерального сырья. Под общей редакцией Ю.Н.Книпович, Ю.В.Морачевского. Л., 1959.
6. Аринушкина Е.В. Руководство по химическому анализу почв. Изд-во МГУ, 1970, с. 231.
7. Ассортимент органических реактивов для определения неорганических ионов. Сульфосалициловая кислота (реактив для определения Fe). НИИТЭХим, М., 1970.
8. Бабко А.К., Пятницкий И.В. Количественный анализ. Госхимиздат, М., 1956, с. 342.
9. Бобрицкая М.А. Методика зольного анализа растений. М., 1958.
10. Бродская В.М. Методы химического анализа минерального сырья. вып. 9, Изд-во "Недра", М., 1965, с.50.
11. Брудзь В.Г., Лукин А.М., Смирнова К.А. Обзорная информация ассортимента реактивов на кальций. Органические реактивы для определения неорганических ионов НИИТЭХим, М., 1969.
12. Власова З.С., Молодцов В.А. Определение хлорид-иона в почвогрунтах и грунтовых водах меркуриметрическим методом. Почвоведение, № 7, 1977.
13. Воскресенский П.И. Техника лабораторных работ. 10 Изд., стереотипное, изд-во "Химия", М., 1973.
14. Гаспарян О.Б. Определение азота, фосфора, калия, и кальция в растительном материале из одной навески. Известия АН АрмССР (биол. науки), т. XIV, № 2, 1961, с. 89-92.
15. Гаспарян О.Б., Мелконян Н.Р. Трилонометрическое определение некоторых зольных элементов растений. Известия АН Арм. ССР (биол. науки), т. XIV, № 7, 1961, с. 57-62.
16. Гаспарян О.Б., Дарбинян О.А. Определение валового азота и фосфора в одной навеске почвы. Сообщения Лабор. агрохимии, № 4, 1961, с. 97-98.
17. Гаспарян О.Б., Григорян О.В. Применение фенолат-гипобромитной реакции при агрохимических исследованиях. Известия АН АрмССР (биол. науки), т. XIV, № 12, 1961, с. III-III3.

18. Гаспарян О.Б. Некоторые рекомендации по анализу питательных растворов, применяемых в гидропонике. Сообщения ИАПГ АН АрмССР, № 7, 1967, с. 86-92.
19. Гаспарян О.Б. К методике определения азота, фосфора и калия в одной навеске растительного материала. Биол. журн. Армении, т. XXI, № 10, 1968, с. 83-88.
20. Гаспарян О.Б., Григорян О.В. Применение фенолат-гипобромитной реакции при фотоколориметрическом определении общего азота в почвах и растениях. Сообщения ИАПГ АН АрмССР, № 10, 1970, с. 93-97.
21. Гаспарян О.Б. Химический анализ оросительных вод. Сообщения ИАПГ АН АрмССР, № 9, 1970, с. 61-81.
22. Гиллебранд В.Ф., Лендель Г.Э. и др. Практическое руководство по неорганическому анализу М., 1960, с. 651.
23. Гинзбург К.Е., Щеглова Г.М. Вульфус Е.В. Ускоренный метод сжигания почв и растений. Почвоведение, № 5, 1963.
24. Гришина Л.А., Самойлова Е.М. Учет биомассы и химический анализ растений. Изд-во МГУ, 1971.
25. Демянов Н.Я., Присяжников Н.Д. Общие приемы анализа растительных веществ. ОНТИ - Госхимиздат, 1933.
26. Ермаков А.И., Арасимович В.В. и др. Методы биохимического исследования растений. Гос. изд. сельхозлит. М.-Л., 1952, с. 471.
27. Журавлев Е.М. Руководство по зоотехническому анализу кормов. М., 1963.
28. Зырин Н.Г., Орлов Д.С., Воробьева Л.А. Справочные и расчетные таблицы для физико-химических методов исследования почв. Изд-во МГУ, 1965.
29. Иванов Д.Н., Л.А.Лернер. Спектральные методы анализа. В кн.: "Агрохим. методы исследования почв", 1975, с. 344.
30. Каплин В.Т., Семенов А.Д. и Дацко В.Г. Опыт быстрого сжигания органического вещества при определении фосфора и азота в природных водах. Гидрохим. материалы, т. XXIX, 1959, с. 225.

31. Калужская В.М. Руководство по зольному анализу растений. М., 1959.
32. Карнаухова Н.И., Пальтихин С.В. Определение кальция и магния в золе растений комплексометрическим методом. Науч. зап. Ворошиловград. с-х ин-та, т. IV, вып. 2, 1957, с. 58-62.
33. Кудяров В.Н. Колориметрическое определение аммонийного азота в почвах и растениях феноловым методом. Агрохимия, № 6. 1965.
34. Леончик О.А. Ускоренный метод мокрого озоления почв и растительных материалов. В кн.: "Землеробство, вып. 3 "Урожай", Киев, с. 145-149.
35. Лурье Ю.Ю., Рыбникова А.Н. Химический анализ производственных сточных вод. Изд-во "Химия", 1966, с. 70.
36. Майборода Н.М. Ускоренное определение азота и фосфора в растениях из одной навески. Агрохимия, № 2, 1966.
37. Методическое руководство по ускоренному анализу золь растений. Подготовлено А.А. Поповцевой. Сыктывкар, 1974.
38. Методы физиолого-биохимического исследования годорослей в гидробиологической практике (АН УССР, Ин-т гидробиологии). Изд-во "Наукова Думка", Киев, 1975, с. 163.
39. Номикос Л.Н. Значение величины pH при меркуриметрическом определении ионов хлора. Гидрохим. материалы т. XXIV, 1953.
40. Никулина Г.Н. Обзор методов колориметрического определения фосфора по образованию "молибденовой" синей. М./Л., Изд-во "Наука", 1965.
41. Петербургский А.В. Практикум по агрохимии. Изд. 6, 1968.
42. Пигменты пластид зеленых растений и методика их исследования. Изд-во "Наука", М.-Л., 1964, с. 98.
43. Пleshков Б.П. Практикум по биохимии растений. Изд-во "Колос", М., 1976.
44. Пешкова В.М., Овсяникова А. Колориметрическое определение марганца формальдоксимом. Завод. лаб., № 5, 7, 800, 1937.
45. Пономарев А.И. Методы химического анализа минералов и горных пород. т. II, 1955.

46. Починок Х.Н. Определение зольных элементов в растениях.
В кн.: "Украинский НИИ физиологии растений. Научные
труды 13-14 (обмен веществ и повышение продуктивности
растений)", Киев, 1958, с. 153.
47. Пришибил Р. Комплексоны в химическом анализе. Изд-во И.Л.М.,
1960.
48. Родин Л.Е., Ремезов Н.П., Базилович Н.И. Методические указа-
ния к изучению динамики биологического круговорота в
фитоценозах. Л., 1968.
49. Самохвалов С.Г., Чеботарева Н.А., Дукова Л.Ф. Определение
подвижного марганца в почвах с помощью формальдоксима.
Химия в сельском хозяйстве, № 4, 1971.
50. Сочеванова М.М. Ускоренный анализ изверженных и осадочных си-
ликатных горных пород с применением комплексометрии.
В кн.: "Методы химического анализа минерального сырья".
вып. 9, изд-во "Недра", М., 1965.
51. Унифицированные методы анализа вод. Изд. П, исправленное,
под общей редакцией проф. Ю.Ю. Лурье. Изд-во "Химия",
М., 1973.
52. Фридрих А. Практика количественного органического микроана-
лиза ГОНТИ - НКТП, М., 1939.
53. Чурбанов В.М., Алексеева Д.М. Определение малых количеств
железа в растениях. Агрохимия, № 12, 1969.
54. Шарло Г. Методы аналитической химии. Изд-во "Химия", № 2,
М., 1969.
55. Шварценбах Г., Флашка Г. Комплексонометрическое титрование.
Изд-во "Химия", М., 1970.
56. Щетина Л.Л. и Бутенко В.А. Колориметрический метод определе-
ния общего азота в почвах и растениях. Почвоведение,
№ 8, 1957.