

В.И. Титова
Е.В. Дабахова
М.В. Дабахов

АГРО- И БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ СОСТОЯНИЯ ЭКОСИСТЕМ

Н. Новгород, 2011

**НИЖЕГОРОДСКАЯ
ГОСУДАРСТВЕННАЯ
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ АКАДЕМИЯ**

***В.И. Титова
Е.В. Дабахова
М.В. Дабахов***

АГРО- И БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ СОСТОЯНИЯ ЭКОСИСТЕМ

Допущено УМО вузов РФ по агрономическому образованию
в качестве учебного пособия для студентов
высших учебных заведений, обучающихся по направлению
110100 «Агрохимия и агропочвоведение»

Н. Новгород – 2011

УДК 631.95 (075)

ББК 40.35

Т - 45

Титова, В.И. Агро- и биохимические методы исследования состояния экосистем: учеб. пособие для вузов / В.И. Титова, Е.В. Дабахова, М.В. Дабахов; Нижегородская гос. с.-х. академия. – Н. Новгород: Изд.-во ВВАГС, 2011. – 170 с.

ISBN 978-5-85152-861-1

Настоящее учебное пособие составлено в соответствии с программами курсов «Экология», «Основы экотоксикологии» и «Сельскохозяйственная экология». Оно включает в себя группу методов химического анализа растений и почв, которые, по мнению авторов, позволяют дать количественную и качественную оценку состояния агроценоза, а также ряд методик по контролю гидрохимического состояния поверхностных вод. Работа сопровождается теоретическими пояснениями по анализируемым объектам, содержит примеры экологической оценки функционирования агроэкосистем, основанные на расчетно-экспериментальных данных, и может быть использована при попытке обоснования степени их загрязнения и деградации.

Учебное пособие рекомендуется к использованию студентами, обучающимися по специальности “Агроэкология” очной и заочной форм обучения, школьниками при изучении экологических дисциплин, а также специалистами сельского хозяйства агрономического профиля, имеющими целью экологическую оценку сельскохозяйственного производства.

Печатается по решению редакционно-издательского совета Нижегородской государственной сельскохозяйственной академии.

Рецензенты:

А.Х. Куликова, докт. с.-х. наук, профессор,
зав. кафедрой почвоведения, агрохимии и агроэкологии
Ульяновской ГСХА

И.Е. Постнов, докт. биол. наук, профессор,
зав. кафедрой защиты растений
Нижегородской ГСХА

ISBN 978-5-85152-861-1

© Нижегородская государственная
сельскохозяйственная академия, 2011

СОДЕРЖАНИЕ

	Стр.
ЗНАЧЕНИЕ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОМ ПРОИЗВОДСТВЕ	6
1. МЕТОДИКА ОТБОРА ПРОБ ПОЧВЫ И РАСТЕНИЙ В ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ	8
1.1. Общие принципы отбора проб почвы	9
1.2. Отбор проб растительного материала	15
2. ТОКСИКАНТЫ В ПОЧВАХ И РАСТЕНИЯХ	18
2.1. Общие принципы определения содержания тяжелых металлов в почве и растениях	19
2.2. Подготовка почвенных проб к анализу	27
2.3. Подготовка растительных образцов к анализу	29
2.4. Определение содержания меди фотоэлектроколориметрическим методом	30
2.5. Оценка степени загрязнения почв и растений тяжелыми металлами	34
2.6. Определение степени накопления токсичных веществ в листовом аппарате растений	38
3. ОСНОВНЫЕ БИОГЕННЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ В ПОЧВАХ	45
3.1. Общие принципы определения содержания биогенных элементов в почве	48
3.2. Определение содержания азота в почве	50
3.2.1. Определение содержания валового азота	52
3.2.2. Определение содержания нитратов в почве	55
3.3. Определение содержания фосфора в почве	57
3.3.1. Определение валового содержания фосфора	59
3.3.2. Определение содержания подвижных соединений фосфора	63
3.4. Определение содержания калия в почве	65
3.4.1. Определение содержания валового калия	66
3.4.2. Определение содержания подвижного калия	69
3.5. Оценка экологического состояния почв по содержанию в них биогенных элементов	70

4. КРЕМНИЙ В ПОЧВАХ И РАСТЕНИЯХ	73
4.1. Определение содержания кремния в почвах	75
4.1.1. Определение содержания валового кремния солянокисло- желатиновым методом по И.С. Кауричеву	76
4.1.2. Определение содержания подвижного кремния модифицированным методом Маллена и Райли с экстракцией кремния по В.В. Матыченкову	80
4.1.3. Трактовка полученных результатов	84
4.2. Определение содержания кремния в растениях	86
4.2.1. Определение содержания кремния в растениях по методу Г.А. Барсуковой	87
4.2.2. Трактовка полученных результатов	90
5. БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЧВ	92
5.1. Аппликационные методы	94
5.1.1. Определение целлюлолитической активности почв (полевой метод)	94
5.1.2. Определение активности разложения целлюлозы (лабораторный метод)	95
5.2. Биохимические методы	97
5.2.1. Ферментативная активность	97
5.2.1.1. Специфика отбора почвенных проб и подготовки их к анализам	98
5.2.1.2. Общие принципы методов определения активности ферментов в почве	100
5.2.1.3. Определение активности каталазы (метод А.Ш. Галстяна)	101
5.2.1.4. Определение активности инвертазы (метод В.Ф. Купревича и Т.А. Щербаковой)	103
5.2.1.5. Определение активности фосфатазы (метод А.Ш. Галстяна)	106
5.2.1.6. Определение нитрифицирующей активности почвы	109
5.2.2. Дыхание почвы	112
5.2.2.1. Определение интенсивности выделения CO ₂ из почвы (метод А.Ш. Галстяна)	113
5.2.2.2. Определение интенсивности выделения CO ₂ из почвы (метод Л.О. Карпачевского)	115
5.3. Оценка биологической активности почв	116

6. ОПРЕДЕЛЕНИЕ КАЧЕСТВА ВОДЫ ПРИРОДНЫХ ВОДОЕМОВ	119
6.1. Отбор проб воды	121
6.2. Определение запаха и вкуса воды	123
6.3. Определение рН воды потенциометрическим методом	124
6.4. Определение содержания взвешенных веществ, общих примесей и сухого остатка	125
6.4.1. Определение концентрации взвешенных веществ	126
6.4.2. Определение содержания общих примесей и сухого остатка	127
6.5. Определение растворенного кислорода в воде по Винклеру	129
6.6. Определение биохимического поглощения кислорода	132
6.7. Определение химического потребления кислорода	134
6.8. Анионный состав воды	136
6.8.1. Определение содержания в воде ортофосфатов	137
6.8.2. Определение содержания в воде хлорид-ионов	140
6.8.3. Определение содержания в воде нитратов	141
7. ТЕСТИРОВАНИЕ ЗАГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВ	145
7.1. Определение токсичности почв методом почвенных пластин	147
7.1.1. Определение общего токсикоза	147
7.1.2. Определение микробного токсикоза	149
7.2. Определение токсичности почв методом водной вытяжки	150
7.3. Оценка степени токсичности почв	151
7.4. Определение кислотно-щелочной буферности почв	152
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	156
СЛОВАРЬ ПОНЯТИЙ И ТЕРМИНОВ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В РАБОТЕ	157
БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК	161
ПРИЛОЖЕНИЯ	163

Значение экологических исследований в сельскохозяйственном производстве

Антропогенная нагрузка на экосистемы в значительной степени связана с сельскохозяйственной деятельностью. Интенсивная обработка почвы, отчуждение питательных веществ с урожаем, загрязнение почв средствами химизации и отходами животноводства, негативные последствия орошения и осушения, дегумификация и эрозия почв – важнейшие факторы, непосредственно влияющие на состояние земель огромных территорий. В сочетании с воздействием промышленности и транспорта на биосферу и ее компоненты это приводит к разрушению природных ландшафтов, замене устойчивых эко(гео)систем на агроэкосистемы, а также к изменению функционирования сохранившихся экосистем. Таким образом, отрицательное воздействие сельского хозяйства на биосферу стало приобретать глобальный характер.

Будущие специалисты агрономы-экологи должны в полной мере осознавать опасность, которую может причинить биосфере неразумное использование отдельных приемов повышения урожайности сельскохозяйственных культур, среди которых в первую очередь следует назвать применение химических средств защиты растений и интенсивное воздействие сельскохозяйственной техники на почву и как следствие этого – уплотнение, нарушение физического состояния верхних горизонтов почв. Не менее важным фактором негативного воздействия является и недостаточное вложение энергии в агроэкосистемы, в частности в виде питательных веществ с минеральными и органическими удобрениями, что создает предпосылки к нарушению биогеохимических циклов элементов и агроистощению почв.

Для поддержания экологического равновесия и сохранения потенциала самоочищения и самовосстановления пахотных угодий от воздействия антропогенных факторов, которые вызывают деградацию почвы и потерю ее плодородия, необходимо проводить постоянные наблюдения за состоянием сельскохозяйственных земель. С этой целью в каждой области и стране в целом осуществляется мониторинг почв земель сельскохозяйственного назначения, представляющий собой систему наблюдений и контроля за состоянием и уровнем загрязнения агроэкосистем для своевременного выявления их изменений, оценки состояния, прогноза, предупреждения и устранения последствий негативных процессов.

Среди основных контролируемых параметров комплексного экологического мониторинга следует назвать химический состав почв (в первую очередь, содержание биогенных элементов и элементов-загрязнителей).

В состав данного пособия включены методики, которые в настоящее время наиболее часто используются в практике экспертизы экологического состояния почвенного покрова. Они позволяют произвести оценку способности почв обеспечивать потребности растений в минеральном питании и определить направление возможных деградационных процессов, установить их скорость и степень проявления.

Данные, полученные в результате применения предлагаемых методик в производственном процессе, могут быть использованы в качестве основы для разработки систем мероприятий по восстановлению и оптимизации функционирования нарушенных естественных и сельскохозяйственных экосистем.

1. МЕТОДИКА ОТБОРА ПРОБ ПОЧВЫ И РАСТЕНИЙ В ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

Одной из наиболее ответственных составляющих программы исследований по оценке состояния агроэкосистем является этап пробоотбора, так как он оказывает значительное влияние на конечный результат. Ошибки на данном этапе приводят к получению неверных данных, что влечет за собой неэффективность (а в худшем случае – нанесение еще большего вреда) принятых управленческих и технологических решений. Во избежание этого необходимо соблюдение регламента и требований к пробоотбору, зафиксированных в нормативных актах.

Основное требование, которое предъявляют к пробоотбору, заключается в том, что отобранная проба должна быть репрезентативной.

Репрезентативность – это такая характеристика отдельных единиц изучаемой статистической совокупности, которая наиболее адекватно отражает исследуемое явление в целом (с определенным уровнем вероятности).

Репрезентативный отбор проб гарантирует, что образец или группа образцов точно представляют свойство или концентрацию загрязнителей на всем участке почвы в целом (или во всем объеме растительной продукции) в данное время. Репрезентативность отбора образцов – понятие комплексное и определяется способом отбора, количеством объединенных проб на единицу площади, количеством точечных проб, слагающих объединенную пробу, объемом (массой) образца, способом приготовления объединенной пробы и т.д.

В общем случае надежность оценки увеличивается с возрастанием числа проб с единицы площади или объема, равномерности их распределения по площади (объему). Чем более неоднородна изучаемая территория, тем плотнее должна быть сетка пробоотбора.

*Перечень необходимых для усвоения студентами
знаний и умений*

После изучения темы студент должен знать:

- нормативные документы, регламентирующие процедуру отбора проб почвы и растительности;

- терминологию, используемую при пробоотборе;
- основные требования, предъявляемые к пробоотбору;
- методики отбора проб почвы и растительности.

Студент должен уметь:

- выбрать методику отбора проб почвы и растительности в зависимости от конкретной ситуации;
- составить схему пробоотбора;
- отобрать пробы почвы и растительности.

1.1. Общие принципы отбора проб почвы

Методика отбора проб определяется объектом и целью исследования. Основными нормативными документами, регламентирующими процедуру отбора проб почвы, являются следующие:

- 1) ГОСТ 17.4.3.01-83 Охрана природы. Почвы. Общие требования к отбору проб (*устанавливает требования к отбору проб почвы при общих и локальных загрязнениях*);
- 2) ГОСТ 17.4.4.02-84 Охрана природы. Почвы. Методы отбора и подготовки проб для химического, бактериологического, гельминтологического анализа (*предназначен для контроля общего и локального загрязнения почв в районах воздействия промышленных, сельскохозяйственных, хозяйственно-бытовых и транспортных источников загрязнения; для оценки качественного состояния почв; для контроля состояния плодородного слоя, предназначенного для землевания малопродуктивных угодий*);
- 3) ГОСТ 28168-89 Почвы. Отбор проб (*распространяется на отбор проб с пахотных земель, почв сенокосов, пастбищ, лесных питомников при агрохимическом обследовании*);
- 4) ГОСТ Р 53123-2008 Качество почвы. Отбор проб. Часть 5. Руководство по изучению городских и промышленных участков на предмет загрязнения почвы (*устанавливает рекомендации, касающиеся методики исследования городских и промышленных зон, где выявлено или предполагается загрязнение почв*);

- 5) РД 52.18.156-99 Методические указания. Охрана природы. Почвы. Методы отбора объединенных проб почвы и оценки загрязнения сельскохозяйственного угодья остаточными количествами пестицидов (*устанавливают методы отбора проб почвы и оценки загрязнения сельскохозяйственных угодий остаточными количествами пестицидов*);
- 6) МУ 2.1.7.730-99. Гигиеническая оценка качества почвы населенных мест. Методические указания (*является нормативно-методической базой для осуществления государственного санитарно-эпидемиологического надзора за состоянием почв населенных мест, сельскохозяйственных угодий, территорий курортных зон и отдельных учреждений*);
- 7) Методические рекомендации по выявлению деградированных и загрязненных земель. – М., 1995 (*определяют порядок организации и проведения работ по выявлению деградированных и загрязненных земель*);
- 8) Методические указания по проведению комплексного мониторинга плодородия почв земель сельскохозяйственного назначения. – М., 2003 (*регламентирует проведение комплексного, в т.ч. агрохимического мониторинга сельскохозяйственных земель*).

Выделяют следующие виды почвенных проб:

- **единичная проба почвы** – проба определенного объема, взятая однократно из почвенного горизонта (слоя);
- **объединённая проба почвы** – проба почвы, состоящая из заданного количества единичных проб.

В соответствии с названными нормативными документами при отборе проб можно использовать два подхода:

- 1) ***сплошное обследование*** – пробы отбираются со всей обследуемой территории, для чего площадь покрывается сплошной сеткой элементарных участков, каждый из которых характеризуется объединенной пробой, состоящей из определенного количества единичных. Единичные пробы равномерно отбирают со всей площади элементарного участка;

2) *выборочное обследование* – образцы отбираются с пробных площадок, которые по определенным принципам выделяют на обследуемой территории. В дальнейшем полученные на них данные интерпретируются на всю территорию.

Сплошное обследование используется при проведении агрохимического мониторинга и сертификации почв.

При выявлении нарушений, связанных с загрязнением и деградацией земель, данный подход обычно практикуется, когда известна площадь, на которой произошло нарушение.

При этом:

- обследуемая территория имеет небольшие размеры, сопоставимые или меньшие, чем рекомендуемые площади пробных площадок (нарушения при строительных работах, разлив загрязнителей на небольших участках и т.д.);
- оценивается деградация почвы вследствие нерациональной системы земледелия, применения отходов производства в качестве удобрений и т.д. (в этом случае для сравнения обычно используются результаты агрохимического обследования, и для обеспечения сопоставимости данных отбор проб следует осуществлять по той же, ранее используемой методике).

При проведении сплошного обследования размер элементарных участков определяется видом сельскохозяйственных угодий, почвенно-климатической зоной, насыщенностью минеральными удобрениями, пестротой почвенного покрова.

Максимально допустимые размеры элементарных участков на неэродированных и слабоэродированных пахотных почвах и улучшенных кормовых угодьях в Волго-Вятском районе не должны превышать: при насыщенности минеральными удобрениями <60 кг д. в-ва/га – 15 га, при насыщенности 60 кг – 10 га, при насыщенности 90 кг – 4 га, при насыщенности >90 кг д. в-ва/га – 2 га. На средне- и сильноэродированных дерново-подзолистых и серых лесных почвах размер элементарного участка должен составлять 1-2 га, черноземах – 3 га (ГОСТ 28168-89).

На рекультивируемых землях всех зон размер элементарного участка не должен превышать 1 га (Методические указания ..., 2003).

Форма элементарного участка по возможности должна приближаться к прямоугольной с отношением сторон не более 1:2. На неэродированных и слабоэродированных почвах маршрутный ход прокладывают посередине элементарного участка вдоль его длинной стороны. На средне- и сильноэродированных почвах, расположенных на склоне длиннее 200 м, маршрутные ходы прокладывают вдоль склона, на более коротких – поперек склона.

По длине маршрутного хода равномерно отбирают единичные пробы. В зоне распространения дерново-подзолистых почв с каждого элементарного участка отбирают 40 точечных проб, в зоне серых лесных почв – 30 точечных проб, во всех остальных зонах – 20 точечных проб. Пробы отбирают на глубину пахотного слоя (на пашне) или на глубину гумусового горизонта (на природных кормовых угодьях). Из точечных проб составляют объединенную пробу массой не менее 300 г.

Преимущество сплошного метода заключается в том, что точечные пробы отбираются равномерно со всей территории, соответственно, охват почвенных условий полный и объединенная проба представительна. Однако сплошной метод трудоемок, вследствие чего его применение не всегда оправдано. В связи с этим при определении степени загрязнения больших территорий чаще проводят *выборочное обследование*. Этой методики придерживаются и при проведении инженерно-экологических изысканий для разработки разделов «ОВОС» и «Охрана окружающей среды» в проектной документации на осуществление хозяйственной и иной деятельности.

С методической точки зрения выборочное обследование является более сложным, чем сплошное. При планировании выборочного обследования необходимо определить:

- расположение пробных площадок на местности;
- размер пробной площадки;
- количество единичных проб, отбираемых с пробной площадки для составления объединенной пробы;
- количество пробных площадок на обследуемой территории.

В общем случае при выделении пробных площадок на местности необходимо придерживаться следующих принципов:

- площадка закладывается на участке с однородным почвенным и растительным покровом, а также хозяйственным использованием;

- площадка должна располагаться на типичном для изучаемой территории месте;
- при неоднородном рельефе местности площадки располагают по элементам рельефа;
- при закладке пробных площадок следует учитывать влияние природных и антропогенных факторов на почвенные свойства и распределение загрязнителей в ландшафте;
- пробная площадка должна иметь привязку (определение и документальная фиксация местонахождения объекта), которая гарантирует возможность повторного отыскания места исследования.

Размеры и количества пробных площадок, а также количества единичных проб регламентированы в нормативных документах.

Так, например, в соответствии с **ГОСТ 17.4.3.01-83** при отборе проб почвы с целью определения ее химического состава допустимый размер пробной площадки при однородном почвенном покрове варьирует от 1 до 5 га, при неоднородном – от 0,5 до 1 га. При этом однородным считается почвенный покров, содержащий не менее 70 % основной почвенной разности.

В отношении расположения пробных площадок на местности в документе даются лишь общие рекомендации:

- *при общем загрязнении почв* пробные площадки намечают по координатной сетке, указывая их номера и координаты (равномерное загрязнение – сетка с равными расстояниями между линиями, неравномерное – сетка с учетом расстояния от источника загрязнения и преобладающего направления ветра);
- *при локальном загрязнении почв* для определения пробных площадок применяют систему концентрических окружностей, расположенных на дифференцированных расстояниях от источника загрязнения, указывая номера окружностей и азимут места отбора проб. В направлении основного распространения загрязняющих веществ систему концентрических окружностей продолжают в виде сегмента, размер которого зависит от степени распространения загрязнения.

Информация о расстоянии между линиями в координатной сетке, или о максимальных площадях, на которые можно интерпретировать результаты с одной пробной площадки, в данном нормативном документе отсутствует.

Масса объединенной пробы, составленной не менее чем из двух точечных, должна быть не менее 1 кг.

Более детальные рекомендации по отбору проб приведены в **МУ 2.1.7.730-99**:

- при контроле за загрязнением почв *промышленными источниками* площадки для отбора проб располагают на площади трехкратной величины санитарно-защитной зоны вдоль векторов розы ветров на расстоянии 100, 200, 300, 500, 1000, 2000, 5000 м и более от источника загрязнения;
- при изучении загрязнения почв *транспортными магистралями* пробные площадки закладываются на придорожных полосах с учетом рельефа местности, растительного покрова, метео- и гидрологических условий. Пробы почвы отбирают с узких полос длиной 200-500 м на расстоянии 0-10, 10-50, 50-100 м от полотна дороги. Одна объединенная проба составляется из 20-25 точечных, отобранных с глубины 0-10 см;
- при *оценке почв сельскохозяйственных территорий* на каждые 0-15 га закладывается не менее одной площадки размером 100-200 м² в зависимости от рельефа местности и условий землепользования. Объединенную пробу составляют из равных по объему точечных (не менее 5), отобранных на одной площадке.

В других нормативных документах предложены несколько иные рекомендации по проведению обследования, но принципиальных различий с рассмотренными методиками нет. В связи с этим, при планировании отбора проб необходимо определиться, какой из действующих нормативных документов в конкретной ситуации является наиболее приемлемым, и в соответствии с ним проводить пробоотбор.

Как в случае сплошного, так и выборочного обследования, результаты изучения почвенного покрова можно дополнять данными по профильному распределению загрязняющих веществ. Для этого закладывается ряд почвенных разрезов и производится отбор образцов погоризонтно (из генетических горизонтов) или послойно (из слоев 0-5, 5-20, 20-40, 40-60, 60-80, 80-100 см и т.д.).

Отбор проб почвы осуществляется лопатой или специальными пробоотборниками – бурами различной конструкции.

При составлении объединенной пробы используют прием квартования, в процессе которого почвенный материал нескольких точечных проб тщательно перемешивают, располагают на бумаге в виде квадрата и делят его диагоналями на четыре равновеликие части. Две противоположные части удаляют, а две другие берут для дальнейшей работы. При необходимости процедуру повторяют несколько раз.

Отобранные пробы помещают в емкости из химически инертного материала (если предполагается анализ на содержание летучих веществ – в емкости с притертыми пробками), снабжают этикетками с указанием места и даты отбора пробы, глубины взятия пробы, фамилии исследователя и транспортируют в лабораторию.

1.2. Отбор проб растительного материала

Основными нормативными документами, регламентирующими процедуру отбора проб растительного материала, являются:

1. ГОСТ 13586.3-83 Зерно. Правила приемки и методы отбора проб (*распространяется на зерно зерновых и зернобобовых культур, предназначенное для продовольственных, кормовых и технических целей*);
2. ГОСТ 27262-87 Корма растительного происхождения. Методы отбора проб (*распространяется на корма растительного происхождения – зеленые корма, сено, солому, силос, сенаж, травяные искусственно высушенные корма*).
3. Методические указания по проведению комплексного мониторинга плодородия почв земель сельскохозяйственного назначения. – М., 2003.

Пробы растений отбирают на тех же участках, что и пробы почвы, непосредственно перед уборкой урожая или выпасом животных.

Выделяют следующие виды проб:

- точечная проба – небольшое количество растительного материала, отобранного из одного места за один прием;
- объединенная проба – совокупность всех точечных проб растительной продукции, отобранных с одного поля или из одной партии;
- средняя проба – часть объединенной пробы, выделенная для анализов.

При отборе растительного материала в поле точечные пробы растений отбирают с пробных площадок размером 1x1 м² (для культур сплошного сева) или 1x2 м² (для пропашных культур), располагая их по диагонали участка или по маршруту отбора проб почвы. На обследуемом участке (поле) следует закладывать не менее 10 пробных площадок.

Надземную часть растений срезают острым ножом, ножницами или серпом на высоте 3-5 см над поверхностью почвы и укладывают в полиэтиленовую пленку или крафтбумагу. Корнеплоды и клубнеплоды выкапывают и укладывают для транспортировки отдельно от ботвы.

Точечные пробы зеленой массы, доставленной на фермы для непосредственного скармливания животным или для приготовления силоса, сенажа, искусственно высушенных кормов, отбирают вручную не менее чем из 10 разных мест порциями по 400-500 г.

Точечные пробы из партий сена или соломы, хранящихся в скирдах или стогах, отбирают с помощью специального пробоотборника грубых кормов или вручную по периметру скирд и стогов на равных расстояниях друг от друга на высоте 1,0-1,5 м от поверхности земли со всех доступных сторон с глубины не менее 0,5 м. Масса точечной пробы должна составлять от 0,1 до 0,5 кг в зависимости от количества отбираемых точечных проб.

Точечные пробы зерна из автомобилей отбираются механическим пробоотборником или вручную щупом на расстоянии 0,5-1 м от переднего и заднего бортов и на расстоянии около 0,5 м от боковых бортов. Из автомобилей с длиной кузова до 3,5 метра следует отбирать 4 пробы, с длиной кузова 3,5-4,5 м – 6 проб, больше 4,5 м – 8 проб. Механическим пробоотборником пробы отбирают по всей глубине насыпи зерна, ручным щупом точечные пробы отбирают из верхнего и нижнего слоев, касаясь щупом дна.

Точечные пробы зерна, хранящегося в складах и на площадках, при высоте насыпи до 1,5 м отбирают ручным щупом, при большей высоте – складским щупом с навинчивающимися штангами. Для отбора проб поверхность насыпи зерна делят на секции площадью примерно 200 м² каждая. В каждой секции пробы отбирают в 6^{ти} точках поверхности на расстоянии 1 м от стен склада (края площадки) и границ секции и на одинаковом расстоянии друг от друга. В каждой точке пробы отбирают из верхнего (10-15 см от поверхности насыпи), среднего и нижнего (у пола) слоев.

Полученные разным способом точечные пробы растительного материала собирают на полог, тщательно перемешивают и расстилают ровным слоем, получая таким образом объединенную пробу. Для составления средней пробы, масса которой должна быть 1,5-2,0 кг, растительный материал берут порциями по 150-200 г из 10 различных мест. При составлении средней пробы зерна рекомендуется использовать квартование. Среднюю пробу снабжают этикеткой и направляют в лабораторию для соответствующей подготовки и анализов.

Вопросы для контроля
и самопроверки

1. Чем обусловлена важность этапа пробоотбора в агроэкологических исследованиях?
2. Что понимают под репрезентативным отбором проб?
3. Перечислите нормативные документы, регламентирующие процедуру отбора проб почвы.
4. Изложите методику отбора проб почвы при сплошном и выборочном обследовании.
5. В чем заключаются общие принципы выделения пробных площадок на местности?
6. Как осуществляют квартование?
7. Перечислите нормативные документы, регламентирующие процедуру отбора проб растительного материала.
8. Изложите методику отбора проб растительного материала в полевых условиях, а также в процессе его транспортировки и хранения.

2. ТОКСИКАНТЫ В ПОЧВАХ И РАСТЕНИЯХ

Загрязнение природных сред тяжелыми металлами в настоящее время является одним из наиболее распространенных следствий техногенного воздействия человека на окружающую среду. К данному классу загрязнителей условно относят элементы, имеющие атомную массу, превышающую 50 а.е.м. Он включает в себя такие элементы, как Hg, Cd, Pb, Zn, Cr, Cu, Ni, Mn, Mo и некоторые другие.

Следует отметить, что большинство из этих элементов при содержании в небольших количествах необходимы растительным и животным организмам и рассматриваются как “микроэлементы”. Термин “тяжелые металлы” по отношению к микроэлементам может применяться в случаях, когда те встречаются в экзогенных, повышенных концентрациях и могут оказывать на растения и животных токсическое воздействие.

Наиболее опасными из тяжелых металлов являются Hg, Cd и Pb, которые даже в самых малых концентрациях не играют никакой положительной роли в метаболизме организмов или положительная роль которых не доказана.

Набор тяжелых металлов для разных территорий может быть различным, что определяется как геохимическими особенностями почв, так и степенью загрязняющего воздействия отдельных предприятий. Для Нижегородской области, например, таковыми являются кадмий и никель.

В связи с этим программа любого экологического исследования включает в себя выявление приоритетных загрязнителей и определение их количественного содержания в изучаемых объектах (почве, растениях, природных водах, донных осадках), что дает возможность сделать вывод о степени их химической деградации.

Не менее важным показателем, позволяющим судить о степени загрязнения окружающей среды, является содержание серы в листовом аппарате растений. Повышенная концентрация данного элемента в листьях древесных пород косвенным образом свидетельствует об интенсивной техногенной нагрузке, обусловленной высоким содержанием в атмосферном воздухе оксидов серы, причиной чего могут быть выбросы загрязняющих веществ отдельными предприятиями.

Перечень необходимых для усвоения студентами
знаний и умений

После изучения темы студент должен знать:

- значение анализов по количественному определению экотоксикантов в почве и растениях как критерия загрязненности отдельных природных сред;
- общие принципы определения токсикантов в почвах и растениях;
- методику отбора образцов и подготовки их к анализу;
- формы нахождения тяжелых металлов в почве и стандартные вытяжки, используемые при определении различных форм тяжелых металлов в почве;
- принципы действия приборов, используемых в анализе (фотоэлектроколориметр, атомно-абсорбционный спектрофотометр);
- принципы определения меди в почве и растениях, серы в листовом аппарате растений.

Студент должен уметь:

- определить содержание меди в почве фотоэлектродиметрическим методом;
- оценить степень загрязнения почв с использованием ПДК, коэффициента техногенной концентрации элемента и суммарного показателя загрязнения;
- проанализировать растительность на содержание серы;
- оценить загрязненность атмосферного воздуха по содержанию серы в листьях растений.

2.1. Общие принципы определения содержания тяжелых металлов в почве и растениях

В ходе определения содержания тяжелых металлов в почвах и растениях находится их *концентрация*, выражаемая в *миллиграммах на 1 кг (мг/кг)*.

Определение содержания тяжелых металлов в почве и растениях имеет следующую последовательность операций.

1. Подготовка образца к анализу

Навеска растительного материала, как правило, подвергается сухому озолению, а зола, в дальнейшем, в соответствии с выбранной методикой, растворяется кислотой. Возможно также мокрое озоление навески растительного материала концентрированными кислотами.

При определении содержания тяжелых металлов в почве представляет интерес не только общее (валовое) их содержание, но и количество элементов, способных мигрировать по профилю; доступных растению в текущий момент, а также потенциально доступных растениям. С учетом этого подготовка почвенных образцов к анализу может быть различной.

А.П. Виноградов выделил следующие формы соединений элементов в почве: а) водорастворимые соли; б) обменно-поглощенные ионы; в) элементы, связанные с органическим веществом почвы; г) элементы, находящиеся в кристаллической решетке алюмосиликатов и других первичных и вторичных минералов.

В соответствии с существующими ныне нормативными документами общее (валовое) содержание тяжелых металлов в почве рекомендуется определять с использованием раствора сильной кислоты – 5н HNO₃ при 3-х часовом кипячении (РД 52.18.191-89 Методика выполнения измерений массовой доли кислоторастворимых форм металлов (меди, свинца, цинка, никеля, кадмия) в пробах почвы атомно-абсорбционным анализом).

Подвижные формы тяжелых металлов определяют, используя различные экстрагенты:

- 1н соляную или азотную кислоту для учета общего количества подвижной формы (ГОСТ Р 50684-94 Почвы. Определение подвижных соединений меди по методу Пейве и Ринькиса в модификации ЦИ-НАО; ГОСТ Р 50687-94 Почвы. Определение подвижных соединений кобальта по методу Пейве и Ринькиса в модификации ЦИ-НАО и др.)
- ацетатно-аммонийный буфер с рН 4,8 для характеристики наиболее мобильной части подвижных запасов (РД 52.18.289-90. Методика выполнения измерений массовой доли подвижных форм металлов (меди, свинца, цинка, никеля, кадмия, кобальта, хрома, марганца) в пробах почвы атомно-абсорбционным анализом);

- дистиллированную воду для количественной оценки самой *подвижной и агрессивной фракции* тяжелых металлов (**РД 52.18.286-91** Методика выполнения измерений массовой доли водорастворимых форм металлов (меди, свинца, цинка, никеля, кадмия, кобальта, хрома, марганца) в пробах почвы атомно-абсорбционным анализом).

Считается, что содержание металлов, определенное с использованием 1н кислоты, характеризует потенциальный запас, а с использованием ацетатно-аммонийного буфера – актуальный запас подвижных форм элементов в почве.

В связи с актуальностью характеристики почв, загрязненных тяжелыми металлами, ученые активно ведут поиск схемы эксперимента, которая позволила бы дать наиболее полный ответ на вопрос о количестве различных форм токсикантов. Вследствие этого, кроме методик, зафиксированных в действующих нормативных документах, в настоящее время существуют авторские научные разработки и рекомендации, предлагающие вытяжки для извлечения различных форм металлов. Так, например, для характеристики группового содержания тяжелых металлов в почвах подзолистого ряда (подзолах, дерново-подзолистых, серых лесных) кафедрой агрохимии МГУ им. М.В. Ломоносова предложено делать одновременно несколько вытяжек с использованием в качестве экстрагентов:

- дистиллированной воды – для определения *водорастворимых* форм элементов;
- ацетатно-аммонийного буфера с pH 4,5 – для извлечения обменных и растворимых в слабых кислотах форм, что характеризует *актуальный запас* элемента в почве;
- 1%-ного раствора ЭДТА в ацетатно-аммонийном буфере (pH 4,5), который позволяет дополнительно к обменным и растворимым в слабых кислотах формам извлекать элементы из органических комплексов и определять *подвижные* соединения тяжелых металлов;
- 1н HCl (HNO₃) – для извлечения элементов, входящих в состав аморфных соединений, что характеризует весь *потенциальный запас* элемента в почве.

Данные, полученные на основании применения этих вытяжек, позволяют судить как о содержании активных форм токсичных элементов, так и о содержании их потенциально доступных форм. Кроме того, эти данные по-

зволяют сделать целый ряд важных заключений о степени воздействия источников загрязнения на почвы (на почвах, находящихся под интенсивным техногенным прессом, более высока доля подвижных, наиболее опасных форм металлов, по сравнению с прочносвязанными), а также о возможном изменении группового состава тяжелых металлов в почвах в ближайшем будущем (в результате деятельности человека и поступления в почву выбросов промышленных предприятий, а также проведения сельскохозяйственных мероприятий: известкования, внесения органических и минеральных удобрений и т.д.).

При использовании различных вытяжек для извлечения тяжелых металлов из почвы, следует учитывать, что действующие ПДК (ОДК) на валовое содержание металлов ориентированы на результаты, полученные с применением 5н HNO₃ при 3-х часовом кипячении, а ПДК для подвижных форм – с применением ацетатно-аммонийного буфера с рН 4,8. Нормативы на содержание металлов, определенных в других вытяжках, отсутствуют.

2. Определение гигроскопической влажности

С целью пересчета воздушно-сухой пробы анализируемого материала на абсолютно-сухую следует провести определение гигроскопической воды в пробах. Для этого в предварительно взвешенный на аналитических весах стеклянный бюкс (металлический стаканчик) берут навеску материала массой около 1 г (с точностью до 0,001 г). Бюксы с пробами ставят открытыми в сушильный шкаф с температурой 105⁰С. После трехчасового нагревания бюксы закрывают крышками и переносят в эксикатор. Остывшие бюксы (через 20 мин) взвешивают на аналитических весах. После взвешивания пробы снова помещают в сушильный шкаф на 2 часа, затем охлаждают и взвешивают еще раз. После первой и второй сушки допустимое расхождение в массе не должно превышать 0,003-0,005 г. В противном случае высушивание следует снова повторить.

Расчет коэффициента гигроскопичности производят по формуле:

$$K_r = 100 / [100 - (Д / E \times 100\%)], \quad (1)$$

где K_r – коэффициент гигроскопичности анализируемого материала (коэффициент пересчета на влажность);

Д – разность масс навески до и после высушивания, г;

E – масса сырой навески, г.

3. Устранение влияния элементов, мешающих определению изучаемого компонента

Анализируемые вытяжки чаще всего содержат целый ряд элементов, которые могут оказывать негативное воздействие на ход анализа. Для устранения этого воздействия применяется ряд приемов:

- создание определенной реакции среды, при которой компоненты, препятствующие ходу анализа, переходят в состояние, не мешающее определению. Например, при определении содержания кадмия по ходу анализа производят сильное подщелачивание раствора (до pH 10-12). При такой реакции среды устойчивость сохраняют только дитизонаты кадмия (соединение, по интенсивности окраски которого в растворе судят о концентрации элемента), а дитизонаты свинца, олова, цинка и других компонентов, мешающих ходу анализа и способных окрашивать раствор, при этом разрушаются;
- маскирование, т.е. добавление растворов соединений, связывающих мешающие элементы в соединения, не оказывающие влияния на анализ. Так, например, при определении содержания меди присутствие в вытяжке лимонной кислоты устраняет мешающее воздействие гидроксида железа, цинка, марганца и некоторых других элементов.

4. Определение содержания элемента в пробе

Определение концентрации загрязнителей в различных природных средах проводится с помощью одних и тех же методик. Отличие заключается лишь в способах подготовки различных объектов к анализу. Подготовленный соответствующим образом материал далее анализируется с помощью следующих наиболее распространенных методов: атомно-абсорбционной спектрофотометрии и (или) фотоэлектроколориметрии.

Метод атомно-абсорбционного анализа основан на свойстве атомов металлов поглощать в основном состоянии свет определенных длин волн, который они испускают в возбужденном состоянии. Необходимую для поглощения резонансную линию получают от лампы с полым катодом, изготовленным из определяемого элемента.

Проба переводится в состояние плазмы на газовой горелке и через пламя пропускается излучение от специальной лампы (для каждого элемента устанавливается своя лампа). Атомы исследуемого элемента поглощают световой поток лампы. Выходящий световой поток трансформируется в электрический сигнал и регистрируется гальванометром. О концентрации элемента в пробе судят по интенсивности поглощения излучения. Этим методом определяют до 70 различных элементов.

Метод фотоэлектроколориметрии относится к оптическим методам анализа и основан на измерении степени поглощения пучка света окрашенным раствором, причем окраска раствора прямо пропорциональна концентрации в нем изучаемого элемента. Пучок света, пройдя через кювету с раствором, попадает на фотоэлемент, который преобразует световую энергию в электрическую, в результате чего на его поверхности образуется электрический ток, сила которого регистрируется микроамперметром. Максимальная сила тока соответствует наименьшему светопоглощению, то есть наименьшей концентрации изучаемого элемента в растворе. Минимальная сила тока, напротив, соответствует наибольшему светопоглощению, то есть высокой концентрации данного элемента. Таким образом, в этом методе аналитическим сигналом является сила тока.

5. Построение калибровочного графика

Для того, чтобы соотнести полученную величину аналитического сигнала (сила тока) с концентрацией элемента в растворе, необходимо построить график зависимости между этими показателями. С этой целью готовят растворы с известными концентрациями и анализируют их на приборах. Ниже изложены основные принципы и последовательность построения калибровочных графиков, для чего можно использовать графический и аналитический способы.

Пример построения калибровочного графика:

Построить график для определения элемента в почве (растении), если концентрации данного элемента в растворах сравнения соответствуют показаниям прибора, приведенным в таблице 2.1.

Графический способ

Для построения графика по оси абсцисс откладывают значение признака X (концентрации элемента в растворах сравнения), а по оси ординат – значение признака Y (показания прибора). Затем при помощи линейки проводят на глаз линию так, чтобы она располагалась как можно ближе ко всем точкам и сумма расстояний от этой линии до точек была наименьшей.

Таблица 2.1

Исходные данные для построения калибровочного графика

Концентрация элемента в растворе сравнения, мкг/мл	Показания прибора
0	0,00
1	0,05
2	0,10
5	0,15
10	0,41
15	0,63
20	0,71

Графический метод подходит лишь в тех случаях, когда нужно достаточно грубо, приближенно выявить общую тенденцию (рис. 1).

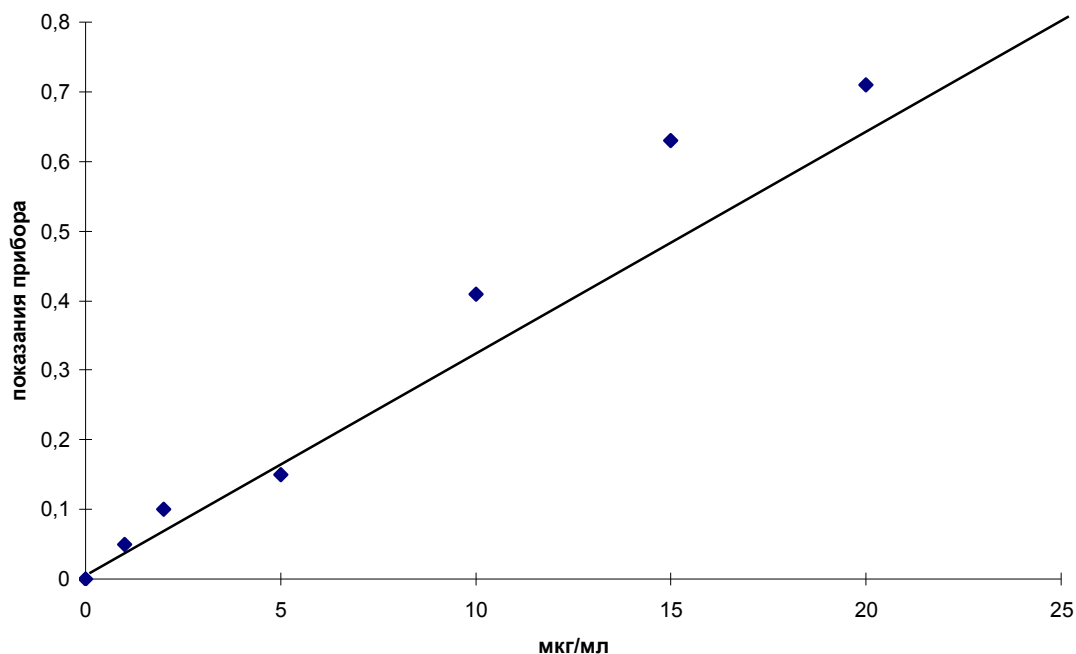


Рис. 1. Вид калибровочного графика

Аналитический способ

Для того, чтобы точно определить любое значение результативного признака, необходимо найти положение теоретической линии регрессии, то есть усредненное течение функции при равномерном увеличении аргумента.

Уравнение линейной регрессии Y по X имеет вид:

$$Y = y_{\text{ср.}} + b_{yx} (X - x_{\text{ср.}}). \quad (2)$$

По исходным наблюдениям вычисляют $y_{\text{ср.}}$, $x_{\text{ср.}}$ и b_{yx} (табл. 2.2):

$$b_{yx} = \frac{\sum (X - x_{\text{ср.}}) (Y - y_{\text{ср.}})}{\sum (X - x_{\text{ср.}})^2}, \quad (3)$$

где b_{yx} указывает, насколько в среднем изменяется Y при изменении X на единицу измерения.

Таблица 2.2

Расчет квадратов отклонений

X	Y	(X - x _{ср.})	(Y - y _{ср.})	(X - x _{ср.})(Y - y _{ср.})	(X - x _{ср.}) ²
0	0,00	-7,57	-0,29	2,195	57,305
1	0,05	-6,57	-0,24	1,577	43,165
2	0,10	-5,57	-0,19	1,058	31,025
5	0,15	-2,57	-0,14	0,360	6,605
10	0,41	2,43	0,12	0,292	5,905
15	0,63	7,43	0,34	2,526	55,205
20	0,71	12,43	0,42	5,221	154,505
x _{ср.} = 7,57	y _{ср.} = 0,29			∑ 13,229	∑ 353,715

Подставляя найденное значение в уравнение, приведенное выше, определяют формулу уравнения прямой линии, которая примет общий вид:

$$Y = a + bX. \quad (4)$$

По уравнению находят теоретически усредненные значения Y для двух крайних значений ряда X и соединяют прямой – это и будет теоретическая линия регрессии Y по X (рис. 2).

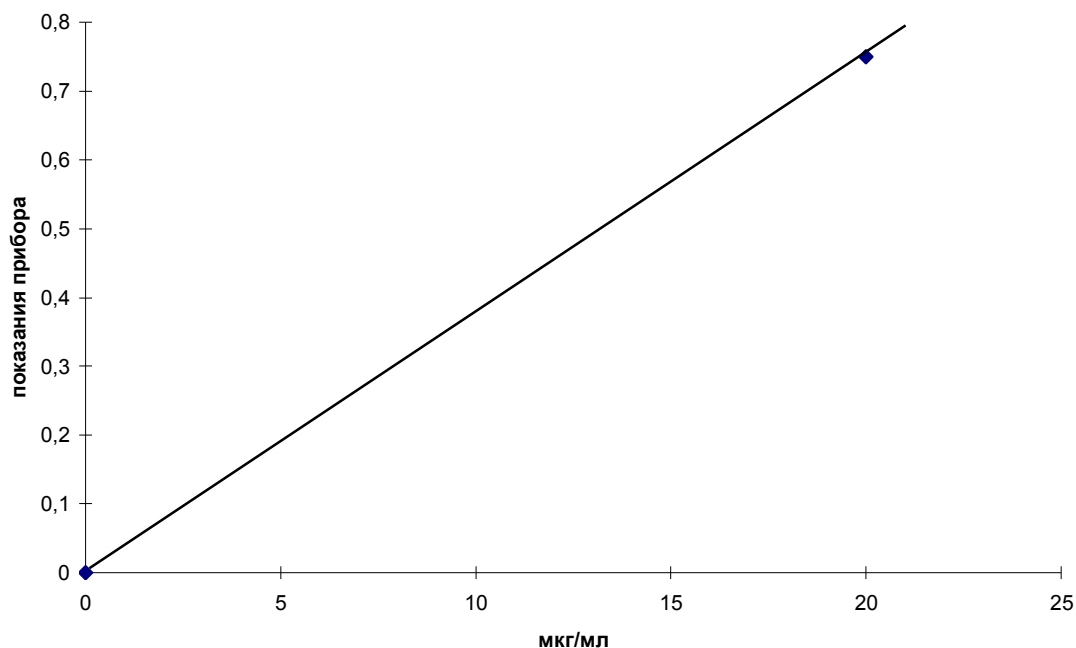


Рис. 2. Вид калибровочной кривой

$$b_{yx} = 13,229/353,715 = 0,037,$$
$$Y = 0,29 + 0,037(X - 7,57),$$
$$Y = 0,01 + 0,037X.$$

Тогда при $X = 0$ $Y = 0,01$, а при $X = 20$ $Y = 0,01 + 0,037 \times 20 = 0,75$

Таким образом, теоретическая линия регрессии пройдет через точки А (0; 0,01) и В (20; 0,75).

2.2. Подготовка почвенных проб к анализу

Определение содержания тяжелых металлов в почве производится в образцах, просушенных до воздушно-сухого состояния, растертых и просеянных через сито с диаметром отверстий 1-2 мм.

Для характеристики комплексного элементного состава почв можно использовать различные вытяжки.

1) Валовый запас элемента в почве определяют с помощью кипячения навески почвы в 5н HNO_3 при соотношении «почва : кислота» как 1:5.

Воздушно-сухую навеску почвы массой 2 г, взятую с точностью до 0,01 г, поместить в колбу емкостью 50 мл, цилиндром прилить 10 мл 5н HNO_3 . Содержимое колбы осторожно перемешать вращательными движениями. Колбу закрыть крышкой-холодильником или полиэтиленовой пленкой (пленку следует слегка утопить внутрь горловины колбы, а для выхода газов в ней сделать отверстия диаметром 0,1-0,5 мм острой палочкой). Закрытую колбу установить в кипящую водяную баню или на закрытую электрическую плитку. Пробу почвы с раствором кипятить в течение 3-х часов, перемешивая ее содержимое круговыми движениями каждый час. Затем колбу охладить до комнатной температуры. Раствор профильтровать через фильтр с «красной» или «белой» лентой в мерную колбу на 50 мл, промывая пробу на фильтре и в колбе дистиллированной водой (приблизительно 30 мл). Фильтрат в мерной колбе довести до метки дистиллированной водой.

2) Содержание подвижных форм элементов в почве

Кислотная вытяжка – 1н HNO_3 или 1н HCl , соотношение «почва : кислота» – 1:10. Навеску воздушно-сухой почвы массой 5 г (точность 0,01 г) поместить в коническую колбу емкостью 100-250 мл и прилить 50 мл раствора одной из указанной кислот. Смесь в течение 1 часа взбалтывать на ротаторе (взбалтывание может заменяться настаиванием в течение 1 суток) и затем профильтровать через бумажный фильтр, предварительно промытый раствором 1н HNO_3 .

Вытяжка, полученная с помощью ацетатно-аммонийного буфера с pH 4,8 (соотношение «почва : раствор» – 1:10). Навеску воздушно-сухой почвы массой 5 г (точность 0,01 г) поместить в коническую колбу емкостью 100-250 мл и прилить 50 мл ацетатно-аммонийного буферного раствора с pH 4,8. Колбу закрыть, перемешать вращательными движениями и выдержать в течение суток. Через 24 ч раствор перемешать и профильтровать через бумажный складчатый фильтр "белая лента" в мерную колбу на 100 мл. Колбу ополоснуть буферным раствором, перенося остатки почвы на фильтр, и промыть им же почву на фильтре (объемом около 50 мл). Фильтрат в мерной колбе довести до метки ацетатно-аммонийным буферным раствором.

Водная вытяжка. Навеску воздушно-сухой почвы массой 5 г (точность 0,01 г) поместить в коническую колбу емкостью 50 мл. Мерным цилиндром отмерить 250 мл бидистиллированной воды. Из взятого объема воды к пробе почвы прилить около 20 мл, содержимое колбы перемешать. Полученную суспензию сразу же профильтровать в коническую колбу вместимостью 250 мл через фильтр с белой лентой. Почву тщательно перенести на фильтр, ополаскивая колбу бидистиллированной водой из цилиндра. Оставшееся количество воды использовать для промывания почвы на фильтре. После того, как все 125 мл бидистиллированной воды будут израсходованы на фильтрование пробы почвы, фильтр с пробой почвы убрать, а коническую колбу с фильтратом и воронкой поставить на электроплитку. Фильтрат выпарить до объема около 5-10 мл. Затем колбе с воронкой дать остыть до комнатной температуры. После остывания воронку снять, ополоснув ее из промывалки так, чтобы промывная вода попала в колбу. Упаренный фильтрат из колбы перенести в мерную пробирку вместимостью 25 мл. Колбу при этом 2-3 раза ополоснуть небольшим количеством воды, которую также перенести в пробирку. Затем к раствору добавить 2-3 капли концентрирован-

ной азотной кислоты и довести его объем в пробирке до метки бидистиллированной водой.

При любой пробоподготовке необходимо определить гигроскопическую влажность почвы и коэффициент K_r (стр. 21).

Реактивы

- 1) **раствор HNO_3 5n**: в коническую термостойкую колбу вместимостью 1000 мл цилиндром вместимостью 1000 мл отобрать 600 мл дистиллированной воды. Другим цилиндром вместимостью 500 мл взять 310 мл азотной кислоты (удельный вес $1,42 \text{ г/см}^3$) и ввести ее в дистиллированную воду в колбе, осторожно помешивая раствор стеклянной палочкой. Полученный раствор охладить до комнатной температуры;
- 2) **раствор HNO_3 1n**: в коническую термостойкую колбу вместимостью 1000 мл цилиндром вместимостью 1000 мл отобрать 938 мл бидистиллированной воды. Другим цилиндром вместимостью 100 мл взять 62 мл азотной кислоты (удельный вес $1,42 \text{ г/мл}$) и ввести ее в бидистиллированную воду в колбе, осторожно помешивая раствор стеклянной палочкой. Полученный раствор охладить до комнатной температуры.
- 3) **раствор HCl 1n**: соляную кислоту смешать с дистиллированной водой из расчета 82,5 мл кислоты (удельный вес $1,185 \text{ г/мл}$) на 1000 мл получаемого раствора;
- 4) **ацетатно-аммонийный буфер с рН 4,8**: в мерную колбу вместимостью 1000 мл отобрать 100 мл ледяной уксусной кислоты и цилиндром вместимостью 1000 мл добавить 800 мл бидистиллированной воды. Тщательно перемешать. В полученный раствор следует добавить 75 мл 25-процентного водного аммиака цилиндром вместимостью 100 мл. Полученный раствор перемешать, охладить до комнатной температуры и измерить рН на иономере. Если рН полученного раствора будет $> 4,8$ или $< 4,8$, добавлением в первом случае уксусной кислоты, а во втором случае – аммиака довести рН раствора до значения 4,8. После чего объем раствора следует дополнить до 1000 мл бидистиллированной водой.

2.3. Подготовка растительных образцов к анализу

Растительные образцы анализируют в воздушно-сухом состоянии. На аналитических весах взять пробу массой 5-20 г и поместить ее в фарфоровый тигель. Предварительное озоление пробы произвести на газовой горелке до прекращения выделения белого дыма. Затем тигель с пробой поместить в муфельную печь, которую нагреть до температуры около 500°C . Через 2 ча-

са тигель охладить в эксикаторе, взвесить на аналитических весах и снова поместить в муфель на 1 час. После этого тигель вновь взвесить и если его вес не изменился, озоление прекратить. В противном случае тигель вновь поместить в муфельную печь.

В тигель прилить небольшое количество раствора HNO_3 (1:1), растворить золу и раствор профильтровать в мерную колбу емкостью 50 мл. Осадок на фильтре промыть раствором горячей 1н HNO_3 , а фильтрат в колбе довести до метки дистиллированной водой.

Параллельно провести определение гигроскопической влажности и коэффициента пересчета K_r (стр. 21).

2.4. Определение содержания меди фотоэлектроколориметрическим методом

Медь относится к элементам, которые при определенном уровне поступления в растения выполняют важные физиологические функции, активно участвуя в обмене веществ. Недостаток ее отрицательно сказывается на общем состоянии всех сельскохозяйственных культур, но наиболее заметные визуальные признаки наблюдаются в посевах зерновых. При этом наблюдаются такие явления, как белоколосица (не происходит образования зерен), вялость в сухой период, заторможенность развития всех органов растений, хлороз.

Дефицит меди для человека проявляется в анемии, плохом состоянии костной и соединительной ткани.

В то же время для человека (равно как и для растений), токсичен и избыток меди. Значительное количество меди, попавшей в желудочно-кишечный тракт, раздражает нервные окончания в желудке и кишечнике и вызывает рвоту. Хронический избыток меди ведет к остановке роста, гемолизу и низкому содержанию гемоглобина, а также к нарушению тканей в печени, почках, мозге.

Общее содержание Cu в земной коре невелико и не превышает 0,01%. В почвах меди в 4-5 раз меньше. Естественное валовое содержание в основных типах почв в среднем составляет: в дерново-подзолистых (ДП) и серых лесных (СЛ) почвах – 15 мг/кг, черноземах (Ч) – 30 мг/кг, торфяниках верховых – 3 мг/кг, дерново-карбонатных почвах – 5 мг/кг. Доля подвижных

форм меди в почве, как правило, невелика, что обуславливает ее небольшую миграционную способность: содержание ее в ДП – 0,5-9,6 мг/кг, СЛ – 6,6-7,8 мг/кг, Ч – 4,1-10 мг/кг.

Сельскохозяйственные культуры существенно различаются между собой по содержанию меди, что обусловлено биологическими особенностями культур и типом почв, на которых они произрастают. Содержание Cu в растениях, выращенных на дерново-подзолистых почвах, значительно выше, чем в растениях, выросших на черноземе: ячмень на Ч – 5,7/3,8 мг/кг (зерно/солома), на ДП – 7,2/6,6 мг/кг; овес на Ч – 3,6/3,7 мг/кг, на ДП – 5,8/7,5 мг/кг; пшеница яровая (зерно) на Ч – 5,2 мг/кг; вика яровая (сено) на Ч – 4,7 мг/кг, на ДП – 12,2 мг/кг; клевер (сено) на ДП – 14,7 мг/кг.

Как правило, токсичность меди для растений начинает наблюдаться при их накоплении выше уровня 20-30 мг/кг сухого вещества.

Принцип метода

Принцип метода заключается в получении окрашенного комплекса меди, содержащейся в вытяжке, с диэтилдитиокарбаматом свинца, экстракции его четыреххлористым углеродом и последующем фотометрировании. В ходе анализа мешающее воздействие могут оказывать ионы железа. Их влияние предотвращают, связывая в комплекс с цитратом. Слабокислую реакцию среды, обеспечивающую получение прозрачных экстрактов, создают забуфериванием кислого раствора ацетатом натрия.

Ход анализа

Пипеткой отобрать 20 мл приготовленного фильтрата и поместить в делительную воронку. Туда же прилить 20 мл маскирующего раствора (смесь 10%-ного лимоннокислого натрия и 20%-ного уксуснокислого натрия), содержимое воронки перемешать. Затем в воронку прилить 10 мл диэтилдитиокарбамата свинца в четыреххлористом углероде и встряхивать ее в течение 2 минут.

После разделения фаз нижний слой четыреххлористого углерода слить в кювету фотоэлектроколориметра (КФК-2) с толщиной просвечиваемого слоя 20 мм и фотометрировать относительно четыреххлористого углерода, используя светофильтр с максимумом пропускания в области 440 нм (чувствительность № 2 или 3 черная).

Параллельно провести контрольный опыт (вместо вытяжки взять 20 мл реактива, используемого при пробоподготовке. При определении содержания подвижных форм меди в почве, например, это ацетатно-аммонийный буфер с рН 4,8, при анализе растительного материала – 1н HNO₃).

По калибровочному графику найти концентрацию меди в опытном и контрольном образцах.

Построение калибровочного графика

В семь мерных колб объемом 50 мл из бюретки прилить указанные в таблице 2.3 объемы раствора с концентрацией меди 10 мкг/мл (рабочий раствор В), довести до метки экстрагирующим раствором, используемом в анализе.

Таблица 2.3

Исходные данные для построения калибровочного графика

Номер раствора сравнения	Объем раствора, мл	Концентрация меди в растворе сравнения, мкг/мл
1	0,0	0,0
2	0,5	0,1
3	1,0	0,2
4	2,0	0,4
5	3,0	0,6
6	4,0	0,8
7	5,0	1,0
8	10,0	2,0

Затем пипеткой из каждой колбы отобрать пробы по 20 мл и поместить их в делительные воронки. Далее произвести те же операции, что и при анализе опытной вытяжки.

Расчет результатов анализа

$$X = (B \times V_1 \times K_r) / (A \times V_2), \quad (5)$$

где X – содержание меди в почве (растительном материале), мг/кг абсолютно сухого вещества;

B – концентрация меди по калибровочному графику, мкг/мл;

V₁ – исходный объем фильтрата, мл;

V₂ – объем фильтрата, взятый для анализа (в делительную воронку), мл;

K_r – коэффициент гигроскопичности (стр. 21);

A – навеска почвы (растительного материала), взятая для анализа, г.

Величина V представляет из себя разницу между показаниями прибора для опытного и контрольного образца ($V = V_{\text{оп.}} - V_{\text{контр.}}$).

ФОРМА ЗАПИСИ

№ образца	Показания прибора	Концентрация меди по графику, мкг/мл	Исходный объем фильтрата, мл	Объем фильтрата, взятый для анализа, мл	Навеска, г	K_r	Содержание меди в образце, мг/кг

Реактивы

- 1) **раствор диэтилдитиокарбамата свинца в четыреххлористом углероде**: 0,664 г диэтилдитиокарбамата натрия поместить в делительную воронку вместимостью 2 л, прилить 1 л четыреххлористого углерода, прибавить 0,486 г азотнокислого свинца, растворенного в 100 мл дистиллированной воды, и встряхивать в течение 5 минут. После разделения фаз нижний слой четыреххлористого углерода с растворенным в нем диэтилдитиокарбаматом свинца отфильтровать через сухой фильтр в склянку из темного стекла. **Раствор хранят в холодильнике не более одного месяца**;
- 2) **раствор натрия лимоннокислого 10%-ный**: 100 г натрия лимоннокислого трехзамещенного растворить в 900 мл дистиллированной воды. Полученный раствор очистить от следов меди экстракцией раствором диэтилдитиокарбамата свинца в четыреххлористом углероде. Для этого 1 л раствора поместить в делительную воронку вместимостью 2 л, прилить 10-20 мл раствора диэтилдитиокарбамата свинца в четыреххлористом углероде, встряхивать в течение 2-3 минут, а после разделения фаз нижний слой удалить. Операцию следует повторять до тех пор, пока органическая фаза станет совершенно бесцветной. Затем очищаемый раствор отмыть от следов диэтилдитиокарбамата свинца, встряхивая его с 10-12 мл четыреххлористого углерода в течение 1-2 минут и, отбрасывая органическую фазу, повторить промывку несколько раз. Очищенный раствор отфильтровать через бумажный фильтр с белой лентой, отмытый от загрязнения медью горячей соляной кислотой, разбавленной дистиллированной водой в отношении 1:100. **Раствор хранят в холодильнике не более одного месяца**;
- 3) **раствор натрия уксуснокислого 20%-ный**: 200 г уксуснокислого натрия растворить в 800 мл дистиллированной воды. Полученный раствор очистить от следов меди экстракцией раствором диэтилдитиокарбамата свинца в четыреххлористом углероде так же, как раствор лимоннокислого натрия. **Раствор хранят в холодильнике не более одного месяца**;

- 4) **маскирующий раствор**: растворы 10%-ного лимоннокислого натрия и 20%-ного уксуснокислого натрия смешать в отношении 1:3. Приготовленный раствор хранят в холодильнике не более одного месяца;
 - 5) **раствор с массовой концентрацией меди 1 мг/мл (раствор А)**: 3,929 г сернокислой меди ($\text{CuSO}_4 \times 5 \text{H}_2\text{O}$) растворить в дистиллированной воде, содержащей 1 мл конц. H_2SO_4 , довести объем раствора дистиллированной водой до 1 л в мерной колбе и перемешать. Раствор хранят не более одного года.
 - 6) **раствор с массовой концентрацией меди 100 мкг/мл (раствор Б)**: в мерную колбу вместимостью 100 мл поместить 10 мл раствора А, долить до метки экстрагирующим раствором и перемешать. Раствор хранят не более 3-х месяцев;
 - 7) **раствор с массовой концентрацией меди 10 мкг/мл (рабочий раствор В)**: в мерную колбу вместимостью 50 мл поместить 5 мл раствора Б, долить до метки экстрагирующим раствором и перемешать. Раствор готовят в день проведения анализа.
- Последний раствор (раствор В) используется для построения калибровочного графика.

2.5. Оценка степени загрязнения почв и растений тяжелыми металлами

При оценке *степени загрязнения почв и растений* используется система соотношения фактически определенной концентрации элемента с предельно (или ориентировочно) допустимой концентрацией вещества или элемента (Приложения 1, 2), при которой изучаемые объекты подразделяются на две категории: соответствующие и не соответствующие требованиям.

Особенно важным при этом является установление предельно допустимой концентрации элемента или вещества (ПДК).

Основные принципы разработки ПДК для почв заключаются в следующем:

- *предельно допустимые количества какого-либо вещества в почве должны рассчитываться при самых неблагоприятных условиях*: с учетом максимально возможной вертикальной миграции (для почв с кислой реакцией среды и легкого гранулометрического состава), при воздействии на наиболее чувствительные культуры и т.д. Это требование до некоторой степени заменяет обычно применяемый при нормировании загрязнения других сред множитель безопасности;

- в условиях принятой нормы загрязнения почв не должны превышаться допустимые уровни загрязнения других сред – воздуха, воды, растительности;
- при принятой норме загрязнения почв токсичные вещества, передвигающиеся по пищевым цепочкам, не должны отрицательно влиять на здоровье человека.

Однако в методике определения ПДК имеется ряд существенных недостатков.

1) ПДК по отдельным элементам для почв разрабатываются главным образом с гигиенических позиций; они не учитывают многообразия почв, в частности, их буферные свойства. При этом может сложиться парадоксальная ситуация, когда фоновое содержание токсичных элементов в черноземах (наиболее устойчивых к загрязнению почвах) может превышать установленные для этих же почв значения ПДК. При этом выращиваемая на них продукция в полной мере соответствует принятым нормативам. Данный недостаток в некоторой степени сглаживается принятыми в 1992 г. новыми нормативами ОДК (ориентировочно допустимые количества), полученными расчетным путем и учитывающими гранулометрический состав и реакцию среды почвы.

2) Использование ПДК проблематично при наличии почв, загрязненных двумя и более элементами, что особенно актуально для сельскохозяйственных угодий, находящихся в городской черте. Именно эти почвы, расположенные в непосредственной близости к промышленным предприятиям, имеют в своем составе повышенные концентрации таких элементов, как Pb, Cd, Zn, Hg, Cu, Ni, Cr и др. Набор этих элементов, даже если их концентрации близки к уровню ПДК, но не превышают его, может отрицательно действовать на здоровье человека.

3) Использование в экологических исследованиях только значений ПДК не позволяет реально оценить степень загрязнения территории. Для этого, помимо предельно допустимого содержания вещества или элемента, необходимо принимать во внимание его фоновое содержание в почвах, т.е. содержание, характерное для данного типа почв в условиях отсутствия антропогенного привноса вещества.

Превышение значения предельно допустимой концентрации элемента или вещества может рассматриваться в качестве показателя

экологического состояния почв, а именно степени их химической деградации.

При этом степень загрязнения почвы определяется как отношение содержания загрязняющего вещества в почве к величине его ПДК. Величина данного отношения является основанием для присвоения конкретной почве балла деградации по 5-балльной шкале (табл. 2.4).

Таблица 2.4

Критерии для оценки степени химической деградации почвы по степени загрязнения ее тяжелыми металлами

Показатель	Степень деградации				
	0	1	2	3	4
Степень загрязнения (превышение величины ПДК, кратность)					
I группа токсичности	< 1	1-2,0	2,1-3,0	3,1-5	> 5
II группа токсичности	< 1	1-3,0	3,0-5,0	5,1-10	> 20
III группа токсичности	< 1	1-5,0	5,1-20	21-100	> 100

Показатель степени загрязнения почвы дифференцирован в соответствии со степенью токсичности анализируемого вещества.

Например, если для недеградированных почв показатель степени загрязнения независимо от группы токсичности для всех элементов меньше единицы, то для крайней степени деградации (4 балл) он должен быть превышен по веществам 1-й группы в 5 раз, для элементов 2-ой группы – в 20 раз и для элементов 3-ей группы токсичности – в 100 раз.

Для количественной оценки степени загрязнения почв рассчитывается коэффициент техногенной концентрации элемента (K_c):

$$K_c = K_{\text{общ}}/K_{\text{фон}} , \quad (6)$$

где $K_{\text{общ}}$ – содержание элемента в исследуемой почве;
 $K_{\text{фон}}$ – содержание элемента в фоновой почве.

При загрязнении почвы двумя и более элементами производится расчет суммарного показателя загрязнения (Z_c):

$$Z_c = \sum_{i=1}^n K_c - (n-1) , \quad (7)$$

где K_c – коэффициенты техногенной концентрации, превышающие 1;
 n – число элементов с $K_c > 1$.

При этом уровень загрязнения считается низким, если Z_c находится в пределах 0-16; средним (умеренно опасным), если $Z_c = 16-32$; высоким (опасным), если $Z_c = 32-128$; очень высоким (чрезвычайно опасным), если $Z_c > 128$.

Использование суммарного показателя загрязнения, как и система ПДК, также имеет некоторые ограничения.

1) При расчете данного показателя не учитывается различная степень токсичности элементов, что может привести или к недооценке степени экологической напряженности (если почва загрязнена элементами с очень высокой токсичностью), или к переоценке (если в составе загрязнения преобладают менее токсичные элементы).

2) В случае, если территория загрязнена преимущественно одним или двумя элементами, суммарный показатель загрязнения не отражает реальной напряженности экологической ситуации. Так, например, согласно вышеприведенной шкале при наличии в почве избыточной концентрации кадмия (и содержании остальных элементов на уровне, близком к фоновому) уровень загрязнения будет считаться низким даже в том случае, если фоновое содержание элемента превышено в 15 раз и достигнет значения 5-10 мг/кг почвы, что значительно превышает уровень ПДК и представляет опасность для здоровья населения.

Таким образом, для более полной оценки степени загрязнения почв рекомендуется применять оба показателя (предельно допустимую концентрацию элемента или вещества и суммарный показатель загрязнения) и принимать в расчет тот, который окажется более жестким.

При оценке степени загрязнения растительной продукции наиболее распространенным методом также является использование ПДК. Для исследовательских целей, однако, рекомендуется использовать дополнительные показатели.

Одним из таких показателей является коэффициент биоаккумуляции (K_b):

$$K_b = K_p / K_{\text{п}} , \quad (8)$$

где K_p – концентрация элемента в растении;

$K_{\text{п}}$ – концентрация элемента в почве.

Этот показатель может характеризовать степень эффективности работы защитных систем растений, предотвращающих поступление избыточных количеств токсичных элементов в биомассу, и степень опасности элемента. Высокое его значение свидетельствует о значительной биоаккумуляции токсичного элемента и, следовательно, о его опасности. Элементом, характеризующимся высоким значением коэффициента биоаккумуляции, является, в частности, кадмий.

Данный коэффициент не является постоянной величиной и может изменяться в зависимости от обеспеченности растений элементами питания, внесения органических удобрений и известковых материалов. Это может быть связано с изменением способности почвы и растений связывать токсичные элементы в малоподвижные формы.

В целом, традиционные агрохимические мероприятия могут способствовать повышению устойчивости почв и растений к загрязнению тяжелыми металлами (Приложения 3,4).

2.6. Определение степени накопления токсичных веществ в листовом аппарате растений

Загрязнение атмосферного воздуха веществами техногенного происхождения прогрессирует в целом ряде промышленно развитых стран и представляет большую опасность для растительного мира. Растения отрицательно реагируют даже на небольшие дозы токсичных веществ, содержащихся в воздухе, причем, на такие малые концентрации, которые не оказывают заметного влияния на организм людей и животных.

В отличие от некоторого регулирования корнями поглощения катионов и анионов из почвы, растения практически не способны регулировать поглощение вредных веществ из воздуха ассимилирующими органами. Это приводит к тому, что вредные компоненты накапливаются в листовом аппарате растений. С одной стороны, в этом заключается очень важная санитарно-гигиеническая роль зеленых насаждений (очистка загрязненного атмосферного воздуха), но с другой – поглощение вредных соединений, чуждых естественному метаболизму растений, вызывает разнообразные аномалии в их развитии.

В зависимости от интенсивности воздействия газообразных загрязнений происходят различные нарушения физиологических функций растений: угнетается деятельность ферментных систем, повреждаются и отмирают целые группы клеток и участки тканей, что может привести к гибели растений. Кислотообразующие газы угнетают древесные насаждения, вызывая суховершинность. Кроме этого, токсичные газы, нарушая рост и развитие растений, снижают их устойчивость к другим неблагоприятным факторам: засухе, морозам, засолению почв и болезням.

Воздействие вредных газов отрицательно сказывается на урожайности сельскохозяйственных культур. Токсиканты, накапливаясь в растениях, идущих на корм скоту, могут вызывать мутации не только у растений, но и у животных.

Наибольший ущерб растительному миру наносит диоксид серы (SO_2). Этот бесцветный газ с резким запахом образуется, в основном, при сжигании серосодержащего топлива, а также выбрасывается в атмосферу целым рядом производств: заводами по производству серной кислоты, предприятиями цветной металлургии, целлюлозобумажной промышленности и т.д. Поднимаясь высоко в атмосферу, он переносится на расстояние 1,5-3,0 тысячи километров. Реагируя с водой, диоксид серы обуславливает появление кислотных осадков.

Механизм фитотоксического действия SO_2 заключается в неспецифическом нарушении деятельности многих ферментов вследствие подкисления цитоплазмы и нарушения ионного режима. Наблюдаются нарушения метаболизма органических соединений, фотосинтетических структур, происходит накопление балластных токсических продуктов. Токсичность сернистого газа значительно увеличивается в присутствии других загрязнителей – окислов азота и озона.

Различают 2 группы повреждений, связанных с действием SO_2 :

- видимые, выражающиеся в деформации, пятнистости и некрозах ассимиляционных органов;
- скрытые, проявляющиеся в снижении продуктивности за счет ингибирования фотосинтеза, изменении метаболизма, увеличении восприимчивости к болезням и вредителям, ускорении старения растений.

В многочисленных научных исследованиях установлено, что содержание серы в листовом аппарате древесных растений коррелирует с содержанием оксидов серы в атмосферном воздухе. В такой ситуации состояние растительности может служить своеобразным критерием загрязненности воздуха.

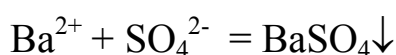
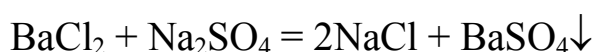
Принцип метода

Для определения степени накопления диоксида серы растениями разработан ряд методов. Одним из наиболее распространенных (и для оценки степени повреждения растений, и для исследования уровня загрязнения воз-

духа) является химико-аналитический метод исследования. Он заключается в анализе листового аппарата с целью определения количества поглощенных токсических веществ.

Определение аккумулированных растением вредных веществ или продуктов их преобразования можно проводить только после длительного контакта растения с загрязненным воздухом, так как при остром кратковременном воздействии токсичных газов на организм органы ассимиляции настолько быстро отмирают, что не успевают поглотить значительного количества загрязнителя.

Метод определения серы в листовом аппарате растений основан на способности сульфат-ионов (SO_4^{2-}) образовывать с ионом бария (Ba^{2+}) нерастворимый в кислотах белый осадок сульфата бария:



Ход анализа

Навеску растительного материала массой 0,5 г (500 мг) поместить в предварительно взвешенный на аналитических весах и пронумерованный фарфоровый тигель. Произвести предварительное озоление в пламени газовой горелки до прекращения выделения дыма, а затем поместить в муфельную печь. Окончательное озоление проводить при температуре около $500^{\circ}C$ в течение 30 минут.

После озоления произвести отмывание осадка. Для этого взять мерную колбу на 50 мл и воронку с фильтром (фильтр смочить дистиллированной водой). Зола из тигля высыпать в воронку с фильтром, тигель промыть два раза дистиллированной водой, воду слить в воронку. Промыть золу, добавляя воду из промывалки (при отмывании осадка сульфаты из золы переходят в фильтрат, который собирается в колбе). Полноту отмывания осадка от сульфатов проверить с помощью проб: взять в пробирку несколько капель фильтрата из воронки, внести в него 1 каплю соляной кислоты и 1-2 капли 5% раствора хлорида бария. Отсутствие помутнения свидетельствует о полном отмывании сульфатов.

Собранный в колбе фильтрат довести до метки дистиллированной водой, перелить его в стакан объемом 100-150 мл, добавить 1-2 капли соляной кислоты (для создания кислой среды, в которой лучше идет осаждение). Через 1 минуту добавить 5 мл осадителя для сульфатов, оставить на 20 минут

для осаждения сульфатов (в присутствии сульфатов появляется белая взвесь – осадок сульфата бария).

Через 20 минут измерить оптическую плотность опытной пробы на фотоэлектроколориметре КФК-2 по отношению к «холостому» опыту (толщина кюветы 10 мм, длина волны 400 нм, чувствительность 3 черная), найти оптическую плотность анализируемого раствора и по калибровочному графику определить содержание серы в мг/50 мл раствора.

Одновременно провести «холостой» опыт, для чего в стакан взять 50 мл дистиллированной воды и добавить все реактивы в описанной выше последовательности. Параллельно провести определение гигроскопической влажности и коэффициента пересчета K_r (стр. 21).

Построение калибровочного графика

Для получения стандартного раствора взять 1,1076 г безводного сернокислого натрия, высушенного до постоянной массы при температуре 100-105°C, растворить в дистиллированной воде и количественно перенести в мерную колбу на 1 л. Затем объем раствора в колбе довести дистиллированной водой до метки. Пипеткой взять объемы стандартного раствора, указанные в таблице 2.5, поместить в мерные колбы емкостью 50 мл, довести дистиллированной водой примерно до метки, после чего прилить те же реактивы, что и в опытной пробе, и фотометрировать.

Таблица 2.5

Исходные данные для построения калибровочного графика

Номер раствора сравнения	Объем стандартного раствора, мл	Концентрация P_2O_5 в растворе сравнения, мг/50 мл
1	0	0,00
2	1	0,25
3	2	0,50
4	3	0,75
5	4	1,00
6	5	1,25
7	6	1,50
8	8	2,00
9	10	2,20

Расчет результатов анализа

Расчет содержания серы в листьях произвести по формуле:

$$X = (B \times K_r) / (A \times 10), \quad (9)$$

где X – содержание серы в листьях на абсолютно-сухое вещество, %;
B – концентрация серы по калибровочному графику, мг/50 мл;
K_r – коэффициент гигроскопичности (стр. 21);
A – навеска листьев, взятая для озоления, г;
10 – множитель для перевода в %.

ФОРМА ЗАПИСИ

№ образца	Концентрация SO ₂ по графику	Коэффициент гигроскопичности	Навеска листьев, г	Содержание серы в листьях, %

Трактовка полученных результатов

Нормативы на содержание серы в листьях древесных пород в настоящее время отсутствуют. При оценке результатов анализа следует соотнести полученное значение с фоном, в связи с чем методика постановки эксперимента предполагает отбор проб растительного материала на территориях, примыкающих к источникам загрязнения, и на участках, находящихся в чистых районах.

Кроме этого, для сравнения может быть использована информация, полученная в ходе научных исследований, проводимых в условиях различного уровня загрязнения атмосферного воздуха. Так, например, на кафедре экологии Марийского государственного университета были получены следующие данные по содержанию серы в листьях рябины обыкновенной:

Концентрация SO ₂ в атмосферном воздухе, мг/м ³	Концентрация серы в листьях, %
0,001	0,047
0,070	0,085
0,094	0,086
0,150	0,100
0,370	0,120
0,450	0,140

В исследованиях, проведенных в г. Новодвинске, было установлено, что среднее содержание серы в листьях деревьев, произрастающих в городе

с развитой промышленностью, существенно выше, чем в листовом аппарате древесных пород фоновой территории:

Содержание серы в листьях, %

	Город	Фон
Тополь бальзамический	0,400	0,315
Береза пушистая	0,190	0,127
Осина	0,260	0,178

Наименьшая степень загрязнения атмосферного воздуха и, соответственно, минимальный уровень загрязнения листьев древесных пород наблюдается в заповедниках. Так, содержание серы в хвое сосен, произрастающих на территории заповедника «Столбы», колеблется в пределах 0,08-0,12 %, количество серы в хвое пихты находится в пределах 0,08-0,11, в хвое кедра – 0,09-0,11 %. Концентрация серы в хвое (листьях) сосны обыкновенной, произрастающей на территории заповедника "Беловежская пуца", составляет 0,08-0,10 %, ели европейской – 0,07-0,13 %; дуба черешкового – 0,14-0,22 %.

По данным ряда зарубежных исследователей содержание серы в листовом аппарате растений выше 0,15 % свидетельствует о токсичном уровне накопления данного элемента. Данная оценка не является однозначной, так как не учитывает биологические особенности различных пород (которые могут существенно различаться по устойчивости к загрязнению), однако может приниматься во внимание при трактовке результатов, полученных в эксперименте.

Реактивы

- 1) **раствор HCl (1:1)**: к взятому объему дистиллированной воды прилить равный объем концентрированной HCl (уд.вес 1,19), размешать стеклянной палочкой и охладить (рН 2,5-3,0);
- 2) **раствор BaCl₂ 5%-ный**: 50 г хлорида бария растворить в 950 мл дистиллированной воды;
- 3) **осадитель для сульфатов**: к одной части 5% раствора BaCl₂ прилить три части глицерина и три части этилового спирта (1:3:3).

Вопросы для контроля
и самопроверки

1. Какие элементы относятся к «тяжелым металлам»?

2. Какие экстрагенты используются для приготовления вытяжек при определении содержания тяжелых металлов?
3. Назовите основные методы анализа, используемые для определения содержания тяжелых металлов в почвах и растениях.
4. На каком принципе основана атомно-абсорбционная спектрометрия?
5. Как производится построение калибровочного графика?
6. Каким образом производится отбор почвенных проб при обследовании больших площадей?
7. Назовите формы содержания тяжелых металлов в почве.
8. На основе каких принципов устанавливается предельно допустимое содержание элементов в почве?
9. Какие показатели используются для оценки степени загрязнения почв тяжелыми металлами?

3. ОСНОВНЫЕ БИОГЕННЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ В ПОЧВАХ

Одним из основных показателей, используемых для характеристики экологического состояния почв, является их обеспеченность биогенными элементами.

Его важность обусловлена следующим:

- 1) **с агрохимических позиций**: почва является главным источником азота, фосфора и калия, необходимых для полноценного питания растительных и, следовательно, животных организмов, в связи с чем недостаток основных биогенных элементов является фактором, лимитирующим их развитие. С учетом этого информация об уровне содержания биогенных элементов необходима для оценки агрономической ценности почвы, планирования мероприятий по регулированию питательного режима растений и т.д.;
- 2) **с экологических позиций**: в результате хозяйственной деятельности человека ускоряется процесс перераспределения биогенных элементов между компонентами окружающей среды (почва, поверхностные и грунтовые воды, донные осадки, атмосфера), что нарушает сложившееся равновесие между разными частями экосистем и может привести к их деградации. В этом плане определение содержания биогенных элементов в почве является обязательным этапом оценки экологического благополучия агроэкосистемы в целом.

Кроме этого, динамика запасов азота, фосфора и калия в почве во многом обусловлена антропогенной деятельностью, вследствие чего определение их содержания обычно включают в программу исследований при проведении ОВОС.

Современный уровень продуктивности природных и искусственных экосистем, явно недостаточный для обеспечения потребностей растущего населения в продуктах питания и сырье для ряда промышленных отраслей, требует дополнительного внесения биогенных элементов под сельскохозяйственные культуры.

Внесение удобрений при этом является необходимым приемом для восстановления биогеохимических циклов элементов в агроэкосистемах.

Нарушение циклов элементов (значительное снижение степени замкнутости) в основном обусловлено следующим:

- выносом биогенных элементов урожаем. Так, например, с урожаем озимой пшеницы 30 ц/га выносятся около 90 кг азота, 35 кг фосфора и 75 кг калия;
- потерями биогенных элементов в ходе выщелачивания, с поверхностным стоком, в процессе эрозии и дефляции;
- потерями азота при денитрификации и т.д.

Как правило, используемые в настоящее время дозы минеральных и органических удобрений не восполняют потерь биогенных элементов, в результате чего практически на всей территории России складывается отрицательный баланс азота, фосфора и калия. Так, например, по данным ЦАС «Нижегородский» за 2009 год общий дефицит по азоту в почвах Нижегородской области составил 2,3 кг/га, по фосфору – 3,2 и по калию – 14,8 кг/га.

На фоне отрицательного баланса элементов питания происходит деградация почв, основным диагностическим показателем которой является уменьшение запасов общего азота, фосфора и калия.

Кроме определения валовых запасов азота, фосфора и калия, дополнительным показателем при оценке агроэкологического состояния почв может служить содержание в почве подвижных (доступных растениям) форм элементов питания.

Однако при этом следует принимать во внимание, что в определенных условиях, даже при отрицательном балансе биогенов, концентрация их подвижных форм остается приблизительно на постоянном уровне за счет непрерывно протекающего процесса высвобождения дополнительных порций элементов из свежевыветренного материала, а также за счет биологической фиксации азота.

Эти источники (почвообразующая порода и атмосферный азот) достаточно велики и в обозримом будущем не будут или не могут быть исчерпаны. Вместе с тем, скорость поступления из них элементов невелика и не может обеспечить потребности современного сельского хозяйства. Кроме того, прогрессирующая деградация почв подрывает возможность пополнения запаса подвижных форм биогенных элементов даже из этих источников (например, при снижении биологической активности почв, играющей большую

роль в процессе выветривания почвообразующей породы, а также в связи с уменьшением интенсивности биологической азотфиксации).

Необходимо отметить еще одну деталь, оказывающую значительное влияние на биогеохимию биогенных элементов. Большая часть продукции сельского хозяйства, содержащей азот, фосфор и калий, расходуется на питание людей и животных, компактно проживающих в урбанизированных индустриальных районах. При этом происходит суммированная, практически необратимая аккумуляция соединений фосфора и калия в зонах плотного населения, что ведет к накоплению аномально высоких концентраций данных элементов в почвах этих зон. Аналогичный процесс протекает в зонах индустриального животноводства (местах расположения крупных животноводческих и птицеводческих хозяйств). В почвах этих районов концентрация подвижного фосфора и обменного калия может достигать 3000 мг/кг, что более чем в 10 раз превышает оптимальный уровень.

Чрезмерное обогащение почв биогенными элементами само по себе не оказывает неблагоприятного влияния на растения, хотя имеются сведения о неблагоприятном воздействии на сельскохозяйственные культуры одностороннего обогащения почв тем или иным элементом при нарушении баланса элементов питания за счет антагонизма ионов, перевода дефицитных элементов в недоступное растениям состояние при воздействии элемента, находящегося в избытке. Например, повышенное содержание фосфора в почве снижает доступность растениям ряда микроэлементов (цинка, меди и некоторых других).

Вместе с тем, *при оценке экологического состояния почв необходимо принимать во внимание сопредельные среды*. Известно, что при увеличении содержания биогенных элементов в почве происходит увеличение интенсивности их выщелачивания в грунтовые и смыва в поверхностные воды. Результатом этого процесса является усиливающаяся эвтрофикация водоемов.

Таким образом, ***очень высокие концентрации биогенных элементов являются индикатором экологического неблагополучия экосистемы в целом.***

Перечень необходимых для усвоения студентами
знаний и умений

После изучения темы студент должен знать:

- значение содержания основных питательных элементов в почве при оценке агрохимического и экологического состояния компонентов агроэкосистемы и сопредельных природных сред;
- принципы и методики определения валовых запасов и подвижных форм азота, фосфора и калия в почве.

Студент должен уметь:

- провести подготовку почвенных образцов к анализу;
- определить общее содержание и концентрацию подвижных соединений основных питательных элементов в почве;
- оценить агрохимическое и экологическое состояние почв по обеспеченности их биогенными элементами.

3.1. Общие принципы определения содержания биогенных элементов в почве

В ходе анализов определяется содержание биогенных элементов (азота, фосфора и калия) в почве, выражаемое в *мг/кг* или в *процентах*. При этом выполняются следующие операции.

1. Подготовка образца к анализу

На этом этапе производится извлечение определяемого элемента из навески почвы и переводение его в жидкую фазу. *В зависимости от цели исследования может определяться валовое содержание – общее количество элемента в почве, и содержание подвижных форм элементов.* Для полного извлечения элемента из почвы требуются достаточно жесткие условия: воздействие сильного реагента при высокой температуре и, при необходимости, в присутствии катализатора. Это дает возможность полностью минерализовать органические соединения почвы и разрушить минералы, что позволяет в дальнейшем перевести элементы в раствор.

Однако чаще всего требуется определить содержание только части общего запаса элементов, доступной растениям. Для этого могут использо-

ваться различные реагенты, но чаще всего на кислых и слабокислых почвах используется слабый раствор кислоты (например, 0,2н HCl – вытяжка, предложенная А.Т. Кирсановым). По мнению автора методики, данный раствор имитирует кислотность корневых выделений и дает возможность адекватного определения общего запаса доступных для растений элементов питания. Извлечение доступных растениям форм элементов производится при комнатной температуре в ходе взбалтывания на ротаторе в течение 1 часа или суточного отстаивания.

Кроме этого, *в рамках расширенной программы исследований по изучению питательного режима почвы может выполняться групповой (фракционный) состав элементов.* Для этого ряд навесок одной и той же почвы (или одну навеску последовательно) обрабатывают различными реагентами. Данный метод дает представление не только о легкоусвояемых запасах, но и о тех резервах элементов питания в почве, которые могут быть постепенно мобилизованы. Знание группового состава элементов позволяет прогнозировать скорости восполнения доступных форм, а также оценивать потенциальную устойчивость почвы к агроистощению.

2. Определение гигроскопической влажности

Ход проведения анализа описан на стр. 21 данного учебного пособия.

3. Устранение элементов, препятствующих экстракции и (или) дальнейшему анализу

Приготовленная вытяжка может содержать мешающие анализу элементы. Так, например, на поведение фосфора влияет присутствие железа, а для калия нежелательными являются некоторые катионы. Для устранения их влияния производится осаждение данных компонентов из раствора.

4. Определение содержания элемента в пробе

На этом этапе устанавливается концентрация изучаемого элемента в вытяжке с помощью методов, специфических для каждого из них. Так, определение содержания азота в пробе производится на фотоэлектроколориметре или с помощью отгона по методу Кьельдаля с последующим титрованием; содержание фосфора чаще всего определяется с помощью фотоэлектроколориметра; калия – методом пламенной фотометрии.

Принцип *фотоэлектроколориметрирования* описан выше (стр. 23).

Пламенная фотометрия является разновидностью эмиссионного спектрального анализа. В данном методе анализируемая проба распыляется в пламени газовой горелки. При этом элементы, содержащиеся в пробе, излучают кванты света с разной длиной волны, образуя несколько спектральных линий. С помощью светофильтра выделяют линию, соответствующую определяемому элементу, и направляют ее на фотоэлемент. При этом концентрация элемента в растворе пропорциональна образующемуся на фотоэлементе току. В результате в данном методе аналитическим сигналом является величина образующегося на фотоэлементе тока.

3.2. Определение содержания азота в почве

Содержание азота в земной коре, по данным А.П. Вернадского, составляет 0,023%. Однако азот земной коры не играет существенной роли в питании растений, в отличие от азота верхних (гумусовых) горизонтов почвы, где его содержание варьирует в пределах 0,05-1,0%.

Основная масса азота почвы содержится в различных органических соединениях: растительных остатках, гумусовых веществах, белках, аминокислотах и др. Лишь малая часть азота представлена минеральной, доступной растениям формой. К тому же его некоторое количество (аммонийный азот) способно необменно фиксироваться глинистыми минералами. Все это приводит к тому, что растения чаще всего испытывают нехватку усвояемых форм азота.

Поступление азота в почву происходит в результате *биологической азотфиксации симбиотическими и свободноживущими микроорганизмами*. В дальнейшем в ходе ряда процессов азот органических соединений переходит в минеральную форму: при *аммонификации* образуется аммонийный, а при *нитрификации* – нитратный азот.

Данные по содержанию минеральных форм азота, являясь одним из главных показателей, анализируемых в целях диагностики минерального питания растений и обоснования подкормок сельскохозяйственных культур азотными удобрениями, являются, однако, менее значимыми при характеристике экологического состояния почвы. Это связано с тем, что содержание аммонийного и нитратного азота в почве в течение года претерпевает суще-

ственные изменения, что, в свою очередь, является следствием действия многих факторов, среди которых можно назвать погодные условия (температура, влажность), агротехнические мероприятия и др. Все это приводит к существенной динамике содержания минерального азота в почве и не позволяет использовать этот показатель как основополагающий при оценке степени антропогенного влияния на экосистему. Тем не менее, содержание нитратов, характеризующихся наибольшей степенью подвижности в почвенном профиле и токсичностью для животных организмов, в ряде случаев включают в программу экологических исследований. Чаще всего данный показатель используют на почвах, где применялись очень высокие дозы органических удобрений, произошел разлив канализационных стоков и т.д.

Следующая стадия трансформации азотсодержащих соединений – **денитрификация** – ведет к потере почвенного азота в виде газообразных соединений. Некоторое количество азота также может быть потеряно в виде нитратов, имеющих высокую миграционную способность и вымываемых за пределы почвенного профиля. В то же время, за счет того, что их доля в общем содержании азота почвы крайне невелика, вымывание нитратного азота не играет особой роли в балансе элемента. Однако это справедливо лишь для естественных, не вовлеченных в сельскохозяйственное использование почв, где процессы поступления и потерь азота сбалансированы.

При вовлечении почв в сельскохозяйственное использование содержание в них общего азота резко, в 1,5-2 раза, снижается. Это происходит оттого, что в ходе обработок верхнего горизонта почв земледельческими орудиями в нем устанавливается резко окислительная обстановка, что благоприятствует процессу минерализации органических соединений. Высвобождение минерального азота сопровождается его усиленным выносом в нижележащие горизонты, потреблением сельскохозяйственными культурами с последующим отчуждением с продукцией, а также денитрификацией. Одновременно ослабевает биологическая фиксация азота. В конечном итоге это приводит к снижению запасов почвенного азота и, соответственно, к существенной деградации почвы.

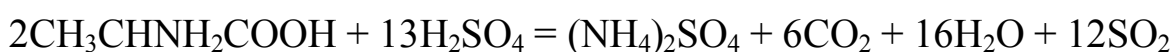
Чтобы этого не происходило, необходимо внесение в почву органических и минеральных азотных удобрений, а также проведение сопутствующих агротехнических мероприятий, позволяющих поддерживать содержание почвенного азота на определенном уровне.

3.2.1. Определение содержания валового азота

Принцип метода

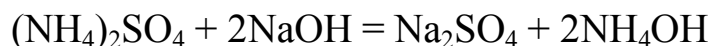
Принципиальной основой метода является окисление органического вещества почвы сильной кислотой в присутствии катализатора и улавливание образовавшегося при этом аммиака слабой кислотой. Определение производится в два этапа.

1. Окисление органического вещества серной кислотой и перевод азота, содержащегося в нем, в аммиачную форму, которая при взаимодействии с избытком серной кислоты образует сернокислый аммоний:

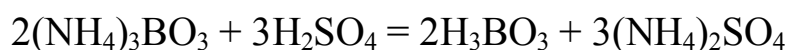
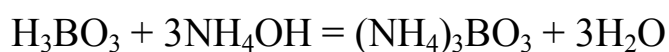


Для более быстрого и полного сжигания органического вещества применяют сернокислый калий, повышающий температуру кипения кислоты, и катализаторы: металлический селен и сернокислую медь.

2. Разложение сернокислого аммония при сильнощелочной реакции добавлением гидроксида натрия:



Далее производится отгон образующегося аммиака в колбу с раствором борной кислоты и его определение методом титрования раствором серной кислоты:



Ход анализа

Навеску почвы массой 2 г (для почв с содержанием гумуса более 2%) или 4 г (для почв с содержанием гумуса менее 2%) взять с точностью до 0,001 г и осторожно перенести на дно колбы Кьельдаля вместимостью 100-150 мл.

В колбу добавить 4,5 г порошка смеси катализаторов (реактив 1). Туда же мерным цилиндром или автоматической пипеткой прилить 10 мл концентрированной H_2SO_4 . Содержимое колбы перемешать круговыми движе-

ниями и оставить на 2-4 часа, чтобы исключить вспенивание жидкости при нагревании. После этого колбу поместить в наклонном положении на газовую горелку в вытяжной шкаф и медленно нагревать. При вспенивании жидкости колбу следует снять и прибавить 2-3 капли спирта или 0,3 г парафина. Когда образование пены прекратится, температуру можно увеличить, а кипение жидкости регулировать так, чтобы пары SO_2 находились в нижней трети горла колбы. В процессе сжигания нагревать следует только ту часть колбы, где находится жидкость, т.к. нагревание колбы выше уровня жидкости может привести к потерям азота.

Озоление органического вещества считают законченным, когда произойдет полное обесцвечивание надсадочной жидкости. Кипячение еще ведут в течение 15-20 минут, затем колбу нужно охладить.

После сжигания приступить к отгону аммиака на аппарате Кьельдаля. Для этого в приемную коническую колбу вместимостью 200-300 мл налить из бюретки 20 мл 2% раствора борной кислоты, прибавить 2-3 капли индикатора Гроака и присоединить приемник к водяному холодильнику таким образом, чтобы кончик трубки был погружен в раствор кислоты на 2-3 мм. Затем в отгонную колбу перегонного аппарата перенести через воронку по палочке содержимое колбы Кьельдаля, в которую предварительно налить по стенкам 30-40 мл бидистиллированной воды, и осторожно взболтать.

Колбу ополоснуть еще 4-5 раз водой по 20-30 мл, чтобы количественно перенести все содержимое. Если после этого в колбе еще останется часть песка, его можно не переносить, а промыть 2-3 раза небольшими порциями (15-20 мл) бидистиллированной воды. Объем раствора в отгонной колбе довести бидистиллированной водой до 350-400 мл. В отгонную колбу с раствором, осторожно наклонив ее, не перемешивая содержимое, по стенке прилить 80 мл раствора 40%-ной щелочи (жидкости в колбе при этой операции не должны перемешиваться). Для спокойного кипения раствора в колбу можно добавить 2-3 кусочка гранулированного цинка.

Не взбалтывая жидкость, отгонную колбу присоединить через стеклянный каплеуловитель к холодильнику. После этого содержимое отгонной колбы перемешать круговыми движениями и включить холодильник, затем нагревательный прибор. Когда объем дистиллята в приемнике достигнет 50-70 мл и раствор из него начнет засасываться в трубку, колбу-приемник следует опустить, чтобы конец трубки был выше уровня жидкости. Отгон нуж-

но продолжать до тех пор, пока объем дистиллята в приемнике не достигнет 150-180 мл.

Полноту отгона проверяют с помощью лакмусовой бумаги или реактива Несслера. Для этого лакмусовую бумажку подставить под каплю дистиллята: если бумага не посинеет, то отгон считается законченным. При посинении лакмусовой бумаги отгон продолжают. Можно также, собрав в пробирку 0,5-1,0 мл дистиллята, прибавить каплю реактива Несслера: отсутствие заметного желтого окрашивания указывает на окончание отгона.

По окончании отгона образовавшийся в приемной колбе борат аммония оттитровать 0,01н раствором H_2SO_4 до изменения зеленой окраски раствора на красно-фиолетовую.

Параллельно провести определение гигроскопической влажности и коэффициента пересчета K_r (стр. 21).

Расчет результатов анализа

Содержание общего азота в почве вычисляют по следующей формуле:

$$X = (V \times C \times K_{H_2SO_4} \times 0,014 \times 100 \times K_r) / A, \quad (10)$$

где X – содержание общего азота в почве, %

V – объем H_2SO_4 , пошедший на титрование, мл;

C – концентрация H_2SO_4 ;

$K_{H_2SO_4}$ – поправка к титру кислоты;

0,014 – масса азота, соответствующая 1 мл 0,01н H_2SO_4 , г/ммоль;

100 – коэффициент пересчета на 100 г почвы;

K_r – коэффициент пересчета на влажность;

A – масса воздушно-сухой почвы.

ФОРМА ЗАПИСИ

№ образца	Навеска почвы, г	Объем 0,01н H_2SO_4 , пошедшей на титрование, мл	Коэффициент пересчета на влажность	N, %

Реактивы

- 1) **реактив 1**: смешать 15 массовых долей K_2SO_4 , 1 долю $CuSO_4 \times 5H_2O$ и 0,025 доли селена металлического. Смесь растереть в фарфоровой ступке в тонкий порошок;

- 2) **концентрированная H_2SO_4** (уд. вес 1,83-1,84);
- 3) **индикатор Гроака**: смешать равные объемы 0,4%-ного спиртового раствора метилового красного и 0,2%-ного раствора метиленового синего;
- 4) **раствор $NaOH$ (КОН) 40%-ный**: 400 г гидроксида Na (К) взвесить на технических весах в фарфоровой чашке, поместить в фарфоровый стакан емкостью 1 л и влить при постоянном перемешивании стеклянной палочкой 600 мл бидистиллированной воды. Помешивание продолжать до полного растворения кусочков щелочи. Раствор закрыть бумагой и оставить стоять до следующего дня. Если раствор окажется мутным, его следует отфильтровать через стеклянную вату. Щелочь хранят в склянке с резиновой пробкой;
- 5) **раствор H_2SO_4 0,01н**: мерным цилиндром взять 11,2 мл концентрированной H_2SO_4 (уд. вес 1,83-1,84), прилить в мерную колбу вместимостью 1 л с предварительно залитыми 100-200 мл бидистиллированной воды. После этого раствор долить бидистиллированной водой до метки, затем перелить в бутылку на 10 л и прилить сюда же еще 9 л бидистиллированной воды. Определить поправку к титру;
- 6) **раствор борной кислоты 2%-ный**: 20 г H_3BO_3 растворить в 980 мл бидистиллированной воды.

3.2.2. Определение содержания нитратов в почве

Принцип метода

Метод основан на взаимодействии нитратов, содержащихся в водной вытяжке из почвы, с дисульфифеноловой кислотой с образованием тринитрофенола, который в щелочной среде дает желтую окраску за счет образования тринитрофенолята натрия. Интенсивность окраски раствора пропорциональна содержанию нитратов.

Ход анализа

Навеску почвы 20 г поместить в коническую колбу на 150-200 мл и прилить туда 100 мл дистиллированной воды. Колбу встряхивать в течение трех минут, затем профильтровать содержимое через плотный складчатый фильтр. Первые мутные порции фильтрата вновь перенести на фильтр, затем 10-20 мл прозрачного фильтрата (в зависимости от предполагаемого количества нитрат-ионов в почве) перенести в фарфоровые чашки и выпаривать на водяной бане. Не следует пересушивать сухой остаток, так как при этом могут наблюдаться потери нитратов.

После охлаждения к сухому остатку прибавить 1 мл дисульфифеноловой кислоты и тщательно растереть стеклянной палочкой. Через 10 минут в чашку добавить 10 мл воды и при помешивании палочкой прилить 15%-ный раствор NaOH до щелочной реакции, устанавливаемой по появлению интенсивной желтой окраски.

Содержимое чашки количественно перенести в мерную колбу емкостью 100 мл и довести до метки дистиллированной водой. Интенсивность окраски измеряют на фотоэлектроколориметре при длине волны 400-440 нм (ФЭК-56М, светофильтр 4, кювета 10 мм). Количество нитрат-ионов рассчитывают по калибровочному графику и выражают в мг/кг почвы.

Параллельно проводят определение гигроскопической влажности и коэффициента пересчета K_r (стр. 21).

Построение калибровочного графика

Навеску 0,1445 г KNO_3 растворить в 1 л дистиллированной воды. 100 мл полученного раствора перенести в литровую мерную колбу и довести до метки. В 1 мл данного образцового раствора содержится 0,009 мг NO_3^- . Для построения калибровочного графика 5, 10, 15, 20 и 25 мл образцового раствора поместить в фарфоровые чашки и выпарить их досуха (табл. 3.1). Далее провести те же операции, что и с испытуемыми растворами.

Таблица 3.1

Исходные данные для построения калибровочного графика

Номер раствора сравнения	Объем образцового раствора, мл	Концентрация NO_3^- в растворе сравнения, мг/100 мл
1	5	0,045
2	10	0,090
3	15	0,135
4	20	0,180
5	25	0,225

Расчет результатов анализа

Содержание NO_3^- в почве рассчитывают по следующей формуле:

$$X = (B \times V_0 \times K_r \times 1000) / (V_1 \times A), \quad (11)$$

где X – содержание NO_3^- в почве, мг/кг;

V – содержание NO_3^- в пробе, определенное по калибровочному графику, мг/100 мл;

V_0 – исходный объем вытяжки, мл;

V_1 – объем вытяжки, взятый на определение, мл;

A – навеска почвы, г;

1000 – коэффициент для пересчета навески почвы в кг.

K_r – коэффициент пересчета на влажность.

ФОРМА ЗАПИСИ

№ образца	Навеска почвы, г	Исходный объем вытяжки, мл	Объем вытяжки, взятый на определение, мл	Показания прибора	K_r	Количество NO_3^- по графику, мг/100 мл	Содержание NO_3^- в почве, мг/кг

Реактивы

- 1) **дисульфифеноловая кислота**: 3 г чистого фенола смешать с 37 г (20,1 мл) конц. H_2SO_4 и нагревать в течение 6 ч на кипящей водяной бане, закрыв колбу пробкой с длинной трубкой (обратным холодильником). Приготовленную дисульфифеноловую кислоту перелить в темную склянку с притертой пробкой и хранить в темном месте;
- 2) **раствор NaOH 15%-ный**: 150 г гидроксида Na взвесить на технических весах в фарфоровой чашке, поместить в фарфоровый стакан емкостью 1 л и при постоянном перемешивании стеклянной палочкой долить 850 мл бидистиллированной воды. Помешивание следует продолжать до полного растворения кусочков щелочи. Раствор закрыть бумагой и оставить стоять до следующего дня. В дальнейшем, если раствор окажется мутным, его отфильтровать через стеклянную вату. Щелочь хранить в склянке с резиновой пробкой.

3.3. Определение содержания фосфора в почве

Фосфор является таким же необходимым для жизнедеятельности организмов элементом, как и азот.

Однако биогеохимия фосфора весьма отлична от азота – он практически не встречается в газообразном виде, хотя иногда появляется в виде PH_3 в болотных ландшафтах и на кладбищах, поэтому биогенного поступления фосфора из воздуха не существует. В то же время известно более 200 фос-

форсодержащих минералов, являющихся основным источником почвенного фосфора.

Среднее содержание фосфора в земной коре составляет 0,09%. В изверженных породах оно колеблется от 0,087% (липарит) до 0,244% (базальт). Общие запасы фосфора в почве весьма малы (лишь 0,1-0,2%) и представлены обычно на 10-20% соединениями, относительно доступными растениям, на 50-60% соединениями малодоступными и на 20-40% соединениями, практически недоступными для растений.

В почве фосфор встречается в составе минеральных и органических соединений. **Органический фосфор** содержится в основном в составе гумуса (от 0,8 до 2,5% P_2O_5) и в виде фитатов (при этом кальциевые и магниевые соли фитина преобладают в нейтральных почвах, а фитаты алюминия и железа – в кислых). Органические фосфаты составляют от 14% до 44% всего почвенного фосфора. Больше всего их содержится в серых лесных почвах лесостепи. Как правило, чем выше содержание гумуса в почве, тем богаче она и органическими соединениями фосфора.

Органические соединения фосфора в почве практически недоступны растениям и не могут рассматриваться как непосредственный источник фосфорного питания. Однако в процессе минерализации этих соединений микроорганизмами органические фосфаты переходят в минеральную форму и становятся доступными для использования.

Большую часть запаса фосфора в почве составляют минеральные соединения. Д.Л. Аскинази выделил **следующие группы минеральных фосфатов**:

- фосфаты кальция типа гидроксил-фторапатита, которые малорастворимы в слабощелочной и нейтральной среде, но становятся подвижными по мере подкисления;
- фосфаты полуторных окислов, преимущественно основного типа. Их растворимость снижается при увеличении доли металла в соединении и при снижении pH (до 3,0-3,5). При повышении pH эти соединения начинают переходить в раствор;
- фосфаты щелочных металлов, одно- и двухзамещенные фосфаты кальция и магния. Они растворимы, геохимически подвижны и доступны растениям.

Позднее к этим группам была добавлена *группа полифосфатов*, содержание которых в удобренных гумусированных почвах может достигать 11-150 мг/кг почвы. Их присутствие в почве активизирует деятельность микроорганизмов, повышает растворимость органических веществ и соединений ряда элементов, необходимых растениям.

Во многих земледельческих районах вынос фосфора с урожаем растительной биомассы заметно превышает количество фосфора, вносимого с минеральными удобрениями, без регулярного внесения которых даже лучшие почвы через 40-50 лет истощаются. В этом случае *снижение содержания в почвах валового и подвижного фосфора может служить показателем их химической деградации.*

В то же время на зафосфаченных почвах в густонаселенных районах и районах индустриального животноводства возможны значительные потери фосфатов в ходе выщелачивания и эрозии и поступление их в поверхностные водоемы.

Об обеспеченности почв фосфатами можно судить по валовому содержанию P_2O_5 и по содержанию подвижных форм элемента, определяемому с помощью слабокислых вытяжек.

3.3.1. Определение валового содержания фосфора

Принцип метода

Для извлечения фосфора из минеральных и органических соединений и перевода его в жидкую фазу навеску почвы обрабатывают концентрированной H_2SO_4 с добавлением $HClO_4$ в качестве катализатора при кипячении (метод К.Е. Гинзбург).

Для устранения мешающего влияния железа проводят осаждение его раствором $K_4[Fe(CN)_6]$ в виде “берлинской лазури” – осадка интенсивно голубого или синего цвета. Оставшийся в растворе избыток ферроцианида калия связывают раствором соли двухвалентного марганца, которая образует белый осадок железистосинеродистого марганца – $Mn_2[Fe(CN)_6]$. В щелочной среде обе соли нерастворимы, поэтому для более полного выделения осадка из раствора смесь подщелачивают аммиаком (метод Уоррена и Пью).

Определение содержания фосфора в растворе основано на образовании окрашенной в голубой цвет фосфорномолибденовой кислоты при взаи-

модействии фосфат-ионов с молибдатом аммония в присутствии хлористого олова и дальнейшем фотоколориметрировании. Интенсивность окраски полученного раствора пропорциональна количеству содержащегося в нем фосфора (метод Труога-Мейера).

Ход анализа

На аналитических весах взять навеску почвы 0,5 г, поместить ее в колбу Кьельдаля так, чтобы вся она была расположена на дне колбы. Пробу смочить дистиллированной водой (2-3 капли), прилить 8 мл концентрированной H_2SO_4 и 5 мл 50-70%-ной $HClO_4$. Колбу оставить на 1 час. После этого закрыть ее маленькой воронкой и осторожно кипятить смесь до полного обесцвечивания раствора (обычно на это требуется 15-30 минут), затем кипячение продолжать еще 5-10 минут. В зависимости от химического состава анализируемой почвы цвет смеси после сжигания может быть белесый, сероватый, желтоватый, иногда с мелкими черными вкраплениями.

Параллельно провести определение гигроскопической влажности и коэффициента пересчета K_r (стр. 21).

После сжигания смесь охладить, затем долить 20-30 мл дистиллированной воды и количественно перенести в мерную колбу емкостью 100 мл, обмывая при этом горячей дистиллированной водой воронку, стенки и горлышко колбы. Раствор вновь охладить, довести дистиллированной водой до метки, перемешать, профильтровать. В аликвоте прозрачного раствора осадить железо. Для этого в мерную колбу на 100 мл поместить 20 мл вытяжки, разбавить водой примерно до 30 мл, прибавить по каплям при помешивании 3 мл 10%-ного раствора $K_4[Fe(CN)_6]$ и спустя 5 минут 2,5 мл 10%-ного раствора $MnSO_4$. Колбу оставить на 15 минут. Затем в смесь по каплям прибавить 10%-ный раствор аммиака до резкого перехода голубой окраски в сиреневато-лиловую (устанавливается рН 6,8-6,9, при которой комплексные соединения железа и марганца удерживаются в осадке). Так как при этой реакции осаждаются и фосфор, для его растворения добавить 3,5 мл 2н раствора H_2SO_4 . Получившийся раствор довести дистиллированной водой до метки, перемешать и профильтровать через плотный обеззоленный фильтр.

10 мл фильтрата перенести пипеткой в мерную колбу на 50 мл, добавить дистиллированную воду до 30 мл, нейтрализовать раствор 10%-ным

аммиаком по фенолфталеину до появления слабо-розовой окраски. Окраску устранить добавлением по каплям 1%-ной H_2SO_4 .

После этого в колбу прилить 2 мл кислого раствора молибдата аммония (комплексообразователя), довести до метки дистиллированной водой, перемешать и добавить 3 капли восстановителя (2,5%-ный раствор $SnCl_2$), вновь перемешать и через 10 минут измерить оптическую плотность на фотоэлектроколориметре в кювете с толщиной просвечиваемого слоя 10 мм, используя светофильтр с максимумом пропускания в области 600-750 нм (ФЭК-56М – светофильтр 9; КФК-2 – длина волны 670, чувствительность 3 красная) относительно холостого опыта (вместо фильтрата используется дистиллированная вода).

Построение калибровочного графика

На аналитических весах взвесить 0,1917 г перекристаллизованного KH_2PO_4 и растворить в 1 л дистиллированной воды. В 1 мл этого раствора содержится 0,1 мг P_2O_5 . Отобрать 25 мл приготовленного раствора и развести дистиллированной водой в мерной колбе емкостью 250 мл. Полученный рабочий раствор в 1 мл содержит 0,01 мг P_2O_5 . Он используется для построения калибровочного графика. Для этого в 6 мерных колб емкостью 50 мл поместить объемы рабочего раствора, приведенные в таблице 3.2.

Таблица 3.2

Исходные данные для построения калибровочного графика

Номер раствора сравнения	Объем рабочего раствора, мл	Концентрация P_2O_5 в растворе сравнения, мг/50 мл
1	0,0	0,000
2	0,5	0,005
3	1,0	0,010
4	2,0	0,020
5	3,0	0,030
6	4,0	0,040

Окрашивание провести по схеме испытуемых растворов, после чего определить их оптическую плотность на фотоэлектроколориметре.

Расчет результатов анализа

Валовое содержание фосфора в почве рассчитывается по следующей формуле:

$$X = (B \times 50 \times K_r) / (A \times 10), \quad (12)$$

- где X – валовое содержание фосфора в почве, %;
 B – концентрация P_2O_5 в растворе по калибровочному графику, мг/50 мл;
50 – разведение исходной вытяжки;
 A – навеска почвы, г;
10 – коэффициент для пересчета в %;
 K_r – коэффициент пересчета на влажность.

ФОРМА ЗАПИСИ

№ образца	Навеска почвы, г	Показания прибора	Содержание P_2O_5 в растворе по графику, мг/50мл	Коэффициент пересчета на влажность	Содержание P_2O_5 в почве, %

Реактивы

- 1) **кислый раствор молибдата аммония**: 25 г молибденовокислого аммония растворить в 200 мл дистиллированной воды при нагревании. Одновременно в мерную колбу емкостью 1 л прилить 500 мл воды и очень осторожно, по стенкам колбы, без перемешивания, влить небольшими порциями 280 мл H_2SO_4 (уд.вес 1,83-1,84). После остывания обоих растворов в серную кислоту небольшими порциями при постоянном помешивании прилить раствор молибденовокислого аммония; после остывания общий объем довести дистиллированной водой точно до 1 л, перемешать и перелить в склянку из темного стекла, где раствор может храниться в течение года;
- 2) **раствор $SnCl_2$ 2,5%-ный**: 0,25 г $SnCl_2 \times 2H_2O$ поместить в стеклянную пробирку и прилить 10 мл 10%-ной HCl . Пробирку погрузить в химический стакан, наполненный водой, и кипятить на плитке до полного растворения восстановителя. После этого раствор охладить и перемешать. Раствор готовят непосредственно в день анализа;
- 3) **раствор H_2SO_4 2н**: 56 мл концентрированной H_2SO_4 (уд.вес 1,83-1,84) осторожно прилить к 700 мл дистиллированной воды, охладить, довести дистиллированной водой до 1 л и перемешать;

- 4) *раствор H_2SO_4 1%-ный*: 5,6 мл концентрированной H_2SO_4 (уд.вес 1,83-1,84) прилить к 700 мл дистиллированной воды, довести дистиллированной водой до 1 л и перемешать;
- 5) *раствор NH_4OH 10%-ный*: 20 % аммиак разбавить водой в соотношении 1:1 (по объему);
- 6) *раствор $MnSO_4$ 10%-ный*: 183 г $MnSO_4 \times 7H_2O$ растворить в 817 мл дистиллированной воды и профильтровать. Хранить не более 6 месяцев;
- 7) *раствор желтой кровяной соли 10%-ный*: 100 г $K_4[Fe(CN)_6] \times 3H_2O$ растворить в 900 мл дистиллированной воды и профильтровать. Хранить не более 6 месяцев;
- 8) *концентрированная H_2SO_4* (уд.вес 1,83-1,84);
- 9) *раствор $HClO_4$ 50-70%-ный*;
- 10) *раствор фенолфталеина 0,1%-ный* в этиловом спирте.

3.3.2. Определение содержания подвижных соединений фосфора

Принцип метода

Метод основан на извлечении фосфора из почвы 0,2н раствором HCl при соотношении почвы и раствора 1:5 для минеральных и 1:50 для торфяных почв с последующим определением подвижного фосфора в виде фосфорно-молибденового комплекса, имеющего синюю окраску, на фотоэлектроколориметре.

Ход анализа

Пробу почвы в 10 г взвесить на технических весах с погрешностью не более 0,1 г, пересыпать в коническую колбу емкостью 100 мл, залить 50 мл 0,2н раствора HCl , тщательно перемешать в течение 1 минуты и оставить на 15 минут, после чего вновь тщательно взболтать и отфильтровать. Первые мутные порции фильтрата отбросить. Отобрать пипеткой 2,5 мл фильтрата, поместить в мерную колбу емкостью 50 мл и довести до метки реактивом Б.

После установления окраски (через 10-15 минут) измерить оптическую плотность раствора на фотоэлектроколориметре в кювете с толщиной просвечиваемого слоя 10 мм, используя светофильтр с максимумом пропускания в области 600-750 нм (ФЭК-56М – светофильтр 9; КФК-2 – длина волны 670, чувствительность 3 красная) относительно холостого опыта (вместо фильтрата используется дистиллированная вода).

Содержание фосфора в анализируемой почве находят по калибровочному графику непосредственно в мг/кг почвы.

Построение калибровочного графика

На аналитических весах взять навеску 0,192 г $\text{KН}_2\text{PО}_4$ с точностью до 0,001 г, растворить в 0,2н растворе HCl и довести объем в мерной колбе до 1 л. Полученный раствор (исходный) содержит 0,1 мг P_2O_5 в 1 мл.

Приготовить рабочую шкалу, для чего взять 11 мерных колб объемом 500 мл и поместить в них указанные в таблице 3.3 объемы исходного раствора, отобранные пипеткой. Колбы довести до метки 0,2н раствором HCl . Для построения калибровочного графика из каждой колбы рабочей шкалы отобрать по 2,5 мл раствора и перенести в мерные колбы на 50 мл. Окрашивание образцовых растворов шкалы сравнения провести аналогично окрашиванию анализируемых почвенных вытяжек.

Таблица 3.3

Исходные данные для построения калибровочного графика

Показатель	Номер образцового раствора (колбы)										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Объем исходного раствора фосфата, мл	0	5	15	25	50	75	100	125	150	200	250
Содержание P_2O_5 в почве, мг/кг	0	5	15	25	50	75	100	125	150	200	250

ФОРМА ЗАПИСИ

№ образца	Навеска почвы, г	Объем вытяжки, мл	Показания прибора	Содержание подвижной P_2O_5 в почве, мг/кг

Реактивы

- 1) **раствор HCl 0,2н**: к 700 мл дистиллированной воды прибавить 16,4 мл концентрированной HCl (уд.вес 1,19), перемешать и довести до 1 л дистиллированной водой;
- 2) **реактив А**: 6 г молибденовокислого аммония, взвешенного с точностью не ниже 0,1 г, растворить в 200 мл дистиллированной воды. 0,145 г сурьмяновиннокислого калия взвесить с погрешностью не более 0,001 г, растворить в 100 мл дистиллированной воды. Оба раствора готовят при слабом нагревании. Охлажденные растворы прилить к 500 мл 5н рас-

- твора H_2SO_4 . Полученный раствор перемешать и довести объем дистиллированной водой до 1 л. Реактив хранят в склянке из темного стекла;
- 3) **реактив Б**: 0,887 г аскорбиновой кислоты взвесить с погрешностью не более 0,001 г, растворить в 168 мл реактива А и довести объем дистиллированной водой до 1 л. Готовят в день определения.

3.4. Определение содержания калия в почве

Калий является более распространенным элементом, чем фосфор и азот. Среднее содержание его в земной коре составляет 2,5%. Валовое содержание калия в гумусовом горизонте почвы в 5-50 раз больше, чем азота и в 8-40 раз больше по сравнению с фосфором. Следовательно, почвы, как правило, имеют значительно большие запасы калия, чем азота и фосфора.

В почве калий находится в виде различных по доступности растениям соединений, которые подразделяют на пять групп:

- **калий труднорастворимых первичных минералов** – алюмосиликатов: ортоклаза и микроклина, мусковита и биотита, нефелина и др. Основная масса почвенных запасов калия представлена именно этой формой;
- **калий, адсорбционно связанный на поверхности почвенных коллоидов** (обменный). Этот источник имеет наибольшее значение в обеспечении растений калием, однако он составляет не более 3% от валовых запасов элемента;
- **необменный калий**, прочно связанный в межpacketных пространствах слоистых глинистых минералов (монтмориллонита, иллита, гидрослюда). Прочность фиксации калия возрастает при контрастном водном режиме с попеременным увлажнением и иссушением, характерном для верхней части пахотного горизонта почв;
- **водорастворимый калий**, доля которого обычно не превышает 20% от содержания обменного калия. Он в наибольшей степени доступен растениям, но его запасы в почве крайне малы;
- **калий, входящий в состав плазмы микроорганизмов**. Его содержание сопоставимо с запасами водорастворимого калия. Доступным растениям он становится лишь после отмирания микробов.

Таким образом, хотя валовое содержание калия существенно превышает запас фосфора в почве, содержание доступных растениям форм этих элементов приблизительно равно. При этом очень медленное выветривание калийсодержащих минералов делает возможной значительную нехватку данного элемента для растений. Наименее устойчивыми к истощению калием являются малогумусные почвы легкого гранулометрического состава.

Калий, как правило, не рассматривают как элемент, являющийся загрязнителем при высоком уровне его содержания в почве. Тем не менее, при определенных его концентрациях в почве увеличивается аккумуляция калия в растениях, что снижает качество кормов. Кроме того, аномально высокое содержание калия в почве (редко встречающееся в естественных условиях, но возможное, как и в случае фосфора, в густонаселенных районах и районах индустриального животноводства) может отрицательно влиять на ППК и нарушать оптимальное для растений соотношение элементов питания в почвенном растворе.

Содержание валового и подвижного калия в почве может использоваться в качестве отдельных показателей при качественной оценке почв и оценке степени ее деградации.

3.4.1. Определение содержания валового калия

Принцип метода

Для перевода калия алюмосиликатов в растворимое состояние навеску почвы спекают со смесью углекислого кальция и хлористого аммония (метод Смита). При сильном прокаливании почвы в смеси с данными реактивами кристаллические решетки силикатов разрушаются:

ортоклаз



В процессе прокаливании вначале разлагается хлористый аммоний с образованием аммиака (который улетучивается) и хлористого водорода (который взаимодействует с углекислым кальцием, образуя хлористый кальций). Хлористый кальций и соляная кислота, воздействуя на алюмосиликаты, разлагают их с образованием силиката кальция, хлоридов щелочных металлов и воды. Таким образом, в результате спекания калий переходит в

форму хорошо растворимых хлоридов, а кремнекислота, алюминий, железо, марганец, магний, фосфорная кислота – в соединения, нерастворимые в воде.

В дальнейшем *растворимые продукты спекания переводят в жидкую фазу дистиллированной водой*, производят осаждение мешающих катионов раствором углекислого аммония, а после фильтрования *в полученной вытяжке определяют содержание калия методом пламенной фотометрии*.

Ход анализа

Образец воздушно-сухой почвы тонко растереть до консистенции пудры в агатовой или яшмовой ступке. На аналитических весах взять навеску 0,5 г с точностью 0,001 г. Приготовить смесь из 1,5 г NH_4Cl и 1 г CaCO_3 . Часть смеси поместить на дно платинового тигля, большую часть тщательно перемешать с навеской почвы и также перенести в тигель; сверху насыпать оставшуюся часть смеси $\text{NH}_4\text{Cl}+\text{CaCO}_3$. Тигель закрыть крышкой и поставить в холодную муфельную печь. Спекание производят при температуре 750°C . На достижение такой температуры в муфеле уйдет около 1 ч, после чего спекание нужно продолжать еще 30 мин.

Параллельно провести определение гигроскопической влажности и коэффициента пересчета K_r (стр. 21).

Получившаяся в тигле спекшаяся масса должна легко отставать от стенок тигля при охлаждении. Всю массу шпателем перенести в фарфоровую чашку; крышку, тигель и шпатель обмыть горячей водой в ту же чашку. Если спекшаяся масса при охлаждении сама не отстает от стенок тигля, то в тигель следует налить горячей воды, в которой масса через несколько минут расплывется.

Фарфоровую чашку покрыть стеклом и нагревать 2 часа на кипящей водяной бане; спекшиеся комочки растереть агатовым пес­тиком. Затем горячую жидкость отфильтровать в мерную колбу на 250 мл через быстро фильтрующий фильтр (красная лента); чашку и фильтр промыть 10-15 раз небольшими объемами горячей воды в ту же колбу. В фильтрате находятся калий, натрий и кальций в виде хлоридов и гидроксидов, а также сульфаты. Для осаждения кальция в колбу добавить 25 мл 10%-ного раствора карбоната аммония. Колбу нагреть на водяной бане в течение 20 минут. После охлаждения объем жидкости довести дистиллированной водой до метки, перемешать и отфильтровать. Полученный фильтрат использовать для определения калия на пламенном фотометре.

Содержание калия в почве определяется по калибровочному графику.

Построение калибровочного графика

На аналитических весах взвесить 1,583 г перекристаллизованного KCl с точностью до 0,001 г и растворить его в 1 л дистиллированной воды. В

1 мл этого раствора содержится 1 мг K_2O . В 9 мерных колб емкостью 250 мл взять объемы исходного раствора, указанные в таблице 3.4, а колбы довести до метки экстрагентом (в данной работе им является дистиллированная вода). Далее растворы сравнения анализируются на пламенном фотометре.

Таблица 3.4

Исходные данные для построения калибровочного графика

Номер раствора сравнения	Объем рабочего раствора, мл	Концентрация K_2O в растворе сравнения, мг/250мл
1	0,5	0,5
2	1,0	1,0
3	2,5	2,5
4	5,0	5,0
5	7,5	7,5
6	10,0	10,0
7	15,0	15,0
8	20,0	20,0
9	25,0	25,0

Расчет результатов анализа

Содержание K_2O в почве рассчитывается по формуле:

$$X = (B \times K_r) / (A \times 10), \quad (13)$$

- где X – содержание калия в почве, %;
 B – содержание K_2O в растворе по графику, мг/250 мл;
 A – навеска почвы, г;
 10 – коэффициент для пересчета в %;
 K_r – коэффициент пересчета на влажность.

ФОРМА ЗАПИСИ

№ образца	Навеска почвы, г	Показания прибора	Содержание K_2O по графику, мг/250 мл	Коэффициент пересчета на влажность	Содержание K_2O почве, %

Реактивы

- 1) NH_4Cl , сухой реактив;

- 2) CaCO_3 , сухой реактив;
- 3) *раствор углекислого аммония 10%-ный*: 100 г углекислого аммония растворить в 900 мл дистиллированной воды и отфильтровать.

3.4.2. Определение содержания подвижного калия

Принцип метода

Метод основан на извлечении калия из почвы 0,2н HCl при соотношении «почва : раствор» как 1:5 для минеральных и 1:50 для торфяных почв с последующим пламенно-фотометрическим определением калия.

Ход анализа

Пробу почвы 10 г взвесить на технических весах с погрешностью не более 0,1 г, перенести в коническую колбу емкостью 100 мл, залить 50 мл 0,2н раствора HCl, тщательно перемешать в течение 1 минуты и оставить на 15 минут, после чего вновь тщательно взболтать и отфильтровать. Первые мутные порции фильтрата отбросить. Приготовленный фильтрат проанализировать на пламенном фотометре.

Содержание калия в почве определить по калибровочному графику.

Построение калибровочного графика

На аналитических весах взвесить 0,792 г перекристаллизованного KCl с точностью до 0,001 г, растворить его в 0,2н растворе HCl и довести объем в мерной колбе до 1 л. В 1 мл этого раствора содержится 0,5 мг K_2O . В 10 мерных колб емкостью 250 мл взять объемы исходного раствора, указанные в таблице 3.5. Колбы довести до метки 0,2н раствором HCl. Далее растворы сравнения проанализировать на пламенном фотометре.

Таблица 3.5

Исходные данные для построения калибровочного графика

Показатель	Номер раствора сравнения (колбы)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Объем исходного раствора калия, мл	0	1	2	4	6	10	20	40	60	80
Содержание K_2O в почве, мг/кг	0	10	20	40	60	100	200	400	600	800

ФОРМА ЗАПИСИ

№ образца	Навеска почвы, г	Объем вытяжки, мл	Показание прибора	Содержание подвижного К ₂ О в почве, мг/кг

3.5. Оценка экологического состояния почв по содержанию в них биогенных элементов

Как правило, оценку почв по содержанию в них элементов питания начинают со сравнения полученных в анализах значений с общепринятыми в агрохимической практике градациями (табл. 3.6) с последующим отнесением изучаемой почвы к той или иной группе.

Таблица 3.6

Группировка почв по содержанию доступных растениям соединений фосфора и калия (по Кирсанову), мг/кг почвы

Группа	Характеристика признака	Фосфор		Калий	
		для почв	для торфов	для почв	для торфов
1	Очень низкая	0-25	0-50	0-40	0-80
2	Низкая	26-50	51-100	41-80	81-160
3	Средняя	51-100	101-200	81-120	161-240
4	Повышенная	101-150	201-400	121-170	241-340
5	Высокая	151-250	401-600	171-250	341-600
6	Очень высокая	> 250	> 600	> 250	> 600

Однако подобные группировки разработаны только для подвижных форм элементов питания. Кроме этого, они свидетельствуют об агрохимической ценности почвы в настоящий момент времени, но не несут информации о степени и глубине изменений, происходящих в почве под влиянием антропогенной деятельности.

Между тем, хозяйственная деятельность человека приводит к существенной трансформации почвенного покрова и, в частности, к изменению содержания биогенных элементов, причем как в сторону снижения, так и в сторону увеличения до аномальных высоких значений.

Для характеристики процессов истощения, сопровождающихся снижением запаса необходимых растениям элементов, определяют степень де-

градации почвы. В качестве критерия изменения экологического состояния почв при этом применяется отклонение современного (в момент определения) содержания элемента от исходного (в момент, предшествующий началу активного антропогенного воздействия на почву). Если информация об исходном содержании элемента в почве отсутствуют, то можно использовать данные по содержанию элементов в аналогичной почве, расположенной максимально близко к изучаемому району и с минимальной степенью антропогенной нагрузки.

Таким образом, в качестве критерия деградации почвы может быть использовано отношение исходного содержания элемента в почве к конечному. *Полученный результат сравнивается со шкалой*, приведенной в таблице 3.7, и *на основании сравнения почве может быть присвоен балл деградации* по 5-балльной шкале. Данная шкала пригодна для оценки степени деградации как по валовому содержанию, так и по концентрации подвижных форм элементов.

Таблица 3.7

Критерии для оценки степени деградации почвы по содержанию биогенных элементов

Показатель	Степень деградации, баллы				
	0	1	2	3	4
Содержание биогенных элементов, кратность снижения	< 1,2	1,2-1,5	1,6-2,0	2,1-5,0	> 5,0

При оценке почв с аномально высоким содержанием биогенных элементов, прежде всего, следует учесть имеющиеся нормативы. В частности, установлено ПДК на содержание нитратов в почве – 130 мг/кг. В отношении других элементов пригодных к использованию норм в настоящий момент времени не разработано.

Принимая во внимание, что повышение содержания подвижных форм фосфора и калия не является признаком агроистощения почвы, следует, однако, при оценке ее состояния учитывать возможное отрицательное влияние этого на сопутствующие компоненты экосистемы.

Если содержание фосфора и калия в изучаемой почве значительно превышает концентрацию, отмеченную в 6^й группе (очень высокая обеспеченность), следует обратить внимание на некоторые дополнительные почвен-

ные характеристики (гумусированность, гранулометрический состав, глубину залегания грунтовых вод, уклон местности и пр.), позволяющие оценить возможность их миграции с внутренним и поверхностным стоком, что чревато загрязнением сопредельных с почвой компонентов экосистемы биогенными элементами.

*Вопросы для контроля
и самопроверки*

1. Какими факторами обусловлена потеря почвами биогенных элементов?
2. Какие экологические проблемы связаны с чрезвычайно высоким содержанием биогенных элементов в почвах?
3. Какие методы анализа используются при определении содержания биогенных элементов в почвах?
4. Назовите основные почвенные процессы, в которых участвуют соединения азота.
5. Как влияет сельскохозяйственная обработка на почвенный азот?
6. Назовите формы минеральных фосфатов и соединений калия, существующих в почве.
7. Каким образом содержание биогенных элементов в почве используют при характеристике степени их деградации?

4. КРЕМНИЙ В ПОЧВАХ И РАСТЕНИЯХ

Кремний является вторым по распространенности элементом после кислорода как в литосфере, так и в почве (кларки 27,6% и 33,0% соответственно). В почве он встречается в виде следующих соединений:

- **диоксида кремния** (кремнезема). Среди его модификаций встречаются как кристаллические (кварцы, горный хрусталь), так и аморфные (опал, халцедон);
- **кремниевых кислот** (моно-, пиро-, димета-, поли-), неустойчивых по составу, малорастворимых в воде, при обезвоживании которых образуется силикагель, обладающий высокой адсорбционной и каталитической способностью;
- **солей кремниевой кислоты** (силикатов), среди которых наиболее распространены алюмосиликаты (полевые шпаты, слюды, каолинит), но встречаются также кремень, яшма, агат, трепел и др.

В почвенных процессах кремний выполняет ряд очень важных функций:

- связывает почвенные частицы, что повышает агрегатированность, влагоемкость и буферность почвы;
- коагулирует почвенные коллоиды, что способствует увеличению водопроницаемости и создает лучшие условия для роста и развития растений;
- как сорбент удерживает в корнеобитаемом слое питательные элементы внесенных удобрений, предохраняя их от вымывания;
- в виде силикат-ионов вытесняет фосфат-ионы из труднорастворимых фосфатов почвы с образованием соответствующих силикатов. При этом происходит трансформация недоступных растениям почвенных фосфатов в доступные формы при одновременном снижении способности фосфорных удобрений к ретроградации;
- в составе почвенной матрицы образует активные адсорбционные и каталитические центры, на которых с разной силой связи закрепляются элементы питания растений, органические соединения почвы, микроорганизмы и т.д.

Растения поглощают кремний в виде анионов монокремниевой кислоты, которые аккумулируются, а затем полимеризуются в эпидермальных тканях (коре, корнях, поверхностных слоях стебля и листьев). Здесь образуется двойной кремнецеллюлозный кутикулярный слой, что способствует механическому укреплению надземной части и корневой системы растений, предотвращает потери воды за счет избыточного испарения, а

также повышает устойчивость растений к заболеваниям и насекомым-вредителям. В сухой массе растений содержится 1-2% кремния, а в золе – от 20 до 90%.

Несмотря на то, что диоксид кремния – самое распространенное вещество литосферы, *по существу кремний на любых почвах является дефицитным элементом питания как для растений, так и для микроорганизмов.* Именно это и предопределяет особый интерес исследователей к изучению кремниевого состояния растений и почвы, а также экологических функций почвы, обеспечиваемых запасом кремнийсодержащих минералов и материалами, используемыми для оптимизации процессов превращений кремния в системе «удобрение – почва – растение».

Перечень необходимых для усвоения студентами
знаний и умений

После изучения темы студент должен знать:

- формы кремния в почве и его значение в формировании плодородия почв;
- группировку почв по содержанию доступного для растений кремния;
- физиологическую роль и особенности накопления кремния в растениях;
- принципы и методики определения валовых запасов и подвижных соединений кремния в почве;
- принцип и методику проведения анализа на содержание кремния в растениях.

Студент должен уметь:

- провести подготовку почвенных образцов к анализу;
- определить валовое содержание и концентрацию подвижных форм кремния в почве;
- проанализировать растения на содержание в них кремния;
- оценить состояние почв по обеспеченности их доступными кремнийсодержащими соединениями;
- составить рекомендации по оптимизации уровня баланса кремния в почве.

4.1. Определение содержания кремния в почвах

Кремниевое состояние почвы оценивают по валовому содержанию, обычно выражаемому в процентах к массе почвы, и по содержанию соединений, потенциально доступных растениям (содержание подвижных форм кремния, выражаемое в миллиграммах SiO_2 на 1 кг почвы).

Валовое содержание кремния в почвах колеблется от 40-70% в суглинистых и глинистых до 90-98% в песчаных по гранулометрическому составу. Большая часть кремния почвы крайне инертна к микробному и абиогенному гидролизу и процесс перехода нерастворимых поликремниевых соединений минералов $(-\text{Si}-\text{O}-\text{Si}-)_n$ в мономерные формы достаточно продолжителен во времени.

Подвижные формы кремния в почве образуются за счет растворения минералов и кремнийорганических соединений в почвенном растворе. Поэтому в нем постоянно находится, как минимум, две формы растворенного кремния: монокремниевая ($\text{H}_4\text{SiO}_4 \leftrightarrow 4\text{H}^+ + \text{SiO}_4^{4-}$) и поликремниевая кислота $(-\text{H}_2\text{O} \times \text{SiO}_2-)_n$. В своем питании растения могут использовать только монокремниевые кислоты (орто- и мета-), концентрация которых для нормального развития растений должна составлять не менее 20 мг/кг. При высушивании почвы и моно-, и поликремниевые кислоты дегидрируют с образованием пленки аморфного кремнезема на поверхности почвенных частиц, который далеко не полностью растворяется в воде и в других экстрагирующих веществах. Это приводит к тому, что при анализе сухих почвенных образцов часть кремния не выходит в почвенную вытяжку, а сам анализ в целом не дает полного ответа о количестве доступного кремния в почве.

Поэтому определение доступных для растений форм кремния в почве проводят в два этапа (по Матыченкову): с использованием водной вытяжки из почвы естественной влажности (*из свежей почвы*) и кислотной вытяжки из воздушно-сухой почвы (*из сухой почвы*).

*Часть подвижных соединений кремния, которые представлены монокремниевыми кислотами, переходящими в водную вытяжку, называют **актуальным (водорастворимым) кремнием**. Другая часть подвижного кремния, представленная аморфными соединениями поликремниевых кислот, переходящими в солянокислую вытяжку из почвы – **это потенциальный (кислоторастворимый) кремний**.*

Образование актуального кремния в почвенном растворе обеспечивается постоянно протекающим частичным растворением потенциальной формы кремния. Содержание актуального (водорастворимого) и потенциального (кислоторастворимого) кремния в почве выражают в миллиграммах на 1 кг почвы.

Для оценки состояния доступного растениям кремния в почвах необходимо знать содержание обеих его форм. В таком случае пользуются объединенным показателем, называемым «активный кремний».

Активный кремний – это количество актуального и потенциального кремния почвы, вычисленное по следующей формуле:

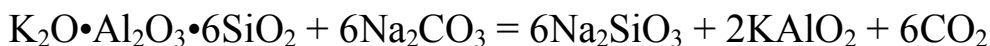
$$Si_{\text{активный}} = 10 \times Si_{\text{актуальный}} + Si_{\text{потенциальный}} \quad (14)$$

Именно этот показатель позволяет с наибольшей степенью достоверности судить о содержании в почве доступных для растений кремнийсодержащих соединений.

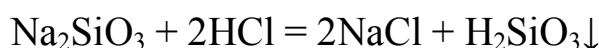
4.1.1. Определение содержания валового кремния солянокисло-желатиновым методом по И.С. Кауричеву

Принцип метода

Метод основан на полном термическом разложении почвы в результате сплавления кремнийсодержащих минералов почвы (ортоклаз, каолин и др.) и плавня, в качестве которого используют углекислый натрий (безводная сода). В результате образуются щелочные соли кремниевой кислоты и другие растворимые соединения по схеме:



В дальнейшем, при взаимодействии полученного силиката натрия с соляной кислотой, происходит выделение в раствор свободной мета-кремниевой кислоты, которая сначала переходит в раствор в виде золя, состоящего из отрицательно заряженных мицелл кремниевой кислоты:



Поскольку в двойном электрическом слое этой мицеллы в качестве противоионов находятся H^+ -ионы, дальнейшее прибавление соляной кислоты нарушает равновесное состояние и вызывает коагуляцию коллоидных частиц с образованием геля кремниевой кислоты $SiO_2 \cdot nH_2O$, который выпадает в виде белого студенистого осадка.

Коагуляция будет более полной в присутствии раствора желатина. При взаимодействии положительно заряженных гидрофильных частиц желатина с отрицательно заряженными гидрофильными частицами кремниевой кислоты происходит нейтрализация зарядов, что ведет к окончательной коагуляции и выделению геля кремневой кислоты из раствора.

Ход анализа

Навеску почвы в 0,5 г (для песчаных и супесчаных почв) или 1 г (для легкосуглинистых и глинистых почв) взять из образца, предварительно растертого и просеянного через сито с диаметром ячеек в 1 мм. Параллельно приготовить три навески плавня (безводного карбоната натрия, предварительно растертого в пудру) общей массой в 5 г: две навески по 1 г и одну навеску в 3 г. Взвешивания провести с точностью до 0,01 г.

На дно чистого, заранее взвешенного на технических весах тигля насыпать 1 г плавня. Отдельно, в чистой сухой фарфоровой чашке тщательно смешать 3 г плавня с навеской почвы, затем смесь высыпать в тигель на первый слой, а сверху покрыть его последним граммовым слоем плавня. По объему смесь должна занимать не более половины тигля (постукиванием тигля о стол ее можно немного уплотнить). Тигель поместить в холодную муфельную печь и нагреть ее до $+1000^\circ C$, на что потребуется примерно 2-3 ч.

Параллельно провести определение гигроскопической влажности и коэффициента пересчета K_r (стр. 21).

Раскаленный тигель вынуть из муфеля, поставить в чистую большую фарфоровую чашку под тягу, подождать около минуты для остужения стенок тигля, затем крайне осторожно, на расстоянии вытянутой руки, в расплавленную жидкость пипеткой порционно по 2 мл внести 10 мл концентрированной HCl (пл. 1,19). Происходит бурная реакция остужения сплава, растворения силикатов и карбонатов. Следует дождаться, пока содержимое тигля не перестанет вспучиваться, затем долить в него ровно столько кон-

центрированной HCl, сколько потребуется на полное покрытие сплава слоем кислоты. После этого тигель в фарфоровой чашке оставить на сутки в вытяжном шкафу. За это время происходит полное растворение силикатов, образовавшихся в результате сплавления.

На следующий день в тигле обнаруживается застывший гель (студень) кремниевой кислоты (зеленовато-желтого цвета за счет примесей металлов и хлора), который необходимо растворить. Для этого все содержимое тигля следует количественно перенести в фарфоровую чашку, стеклянной палочкой отделяя студень от стенок. Остатки геля в тигле растворить в соляной кислоте (разбавленной дистиллированной водой в соотношении 1:1), обрабатывая тигель ее небольшими порциями, и также перенести в фарфоровую чашку. Добиться полного растворения сплава, помешивая раствор в чашке стеклянной палочкой.

Полученный солянокислый раствор сплава выпарить на кипящей водяной бане под тягой до состояния влажных солей. После этого к остатку в фарфоровой чашке прилить 30 мл конц. HCl (эта порция кислоты идет на начало коагуляции кремневой кислоты), аккуратно перемешать смесь стеклянной палочкой и продолжить нагрев уже на некипящей бане в течение 5-10 мин. Затем, при постоянном помешивании раствора в чашке, по каплям прилить 5 мл свежеприготовленного 1% раствора желатина (желатин усиливает и завершает коагуляцию), тщательно перемешивая каждую прибавленную к раствору каплю энергичными круговыми движениями стеклянной палочки, и продолжить нагрев смеси на некипящей бане еще 5-10 мин.

После окончания коагуляции для снижения кислотности раствора в смесь добавить 30 мл горячей дистиллированной воды. Хорошо перемешать раствор и дать постоять на водяной бане еще 5-10 мин., чтобы полностью растворить соли и окончательно осадить гель кремниевой кислоты. Затем раствор с осадком из фарфоровой чашки количественно перенести в воронку на нескладчатый фильтр (белая лента), которую предварительно поместить в коническую колбу-приемник емкостью 200-250 мл. Чашку обмыть 2-3 раза 1% раствором HCl, тщательно очищая ее при этом стеклянной палочкой и перенося раствор соляной кислоты на фильтр.

Далее осадок кремниевой кислоты на фильтре 5-6 раз промыть 1% раствором HCl, после чего провести первую пробу на присутствие в стекающем с воронки фильтрате иона III-валентного железа (Fe^{3+}). Для этого следует в

фарфоровую чашечку собрать несколько капель стекающей с носика воронки жидкости и, помешивая, добавить к ним каплю 10% раствора роданида калия (натрия или аммония). В кислом растворе в присутствии ионов Fe^{3+} получается розово-красная окраска различной интенсивности от образующегося роданида железа $[\text{Fe}(\text{SCN})_3]$. Отсутствие окраски показывает, что железо и другие примеси удалены.

Осадок, отмытый соляной кислотой от примесей железа, 2-3 раза промыть горячей водой для удаления HCl и подсушить на воздухе. Затем вынуть фильтр с осадком из воронки, аккуратно сложить так, чтобы он не порвался, поместить сложенный фильтр в предварительно взвешенный тигель (точность до 0,01 г) и обуглить на горелке под тягой. После этого тигель с обугленным осадком поставить в холодную муфельную печь, нагреть ее до температуры $+1000^\circ \dots +1200^\circ \text{C}$ и сжигать в течение 1,5 ч.

Прокаленный тигель с золой остудить в эксикаторе и взвесить с точностью до 0,01 г.

Расчет результатов анализа

Вычисление содержания валового кремния проводят по формуле:

$$\text{SiO}_2 (\%) = [100 \times (M_{\text{ос}} - M_{\text{ф}}) \times K_{\text{г}}] / C, \quad (15)$$

где SiO_2 – содержание в почве валового кремния, %;

$M_{\text{ос}}$ – масса полученного осадка, г;

$M_{\text{ф}}$ – масса золы фильтра, г

(значение берется с упаковочной ленты);

$K_{\text{г}}$ – коэффициент на влажность;

C – навеска почвы, взятая для сплавления, г.

ФОРМА ЗАПИСИ

№ образца	Навеска почвы, г	Масса пустого тигля, г	Масса тигля с осадком после озолоения, г	Масса полученного осадка, г	Масса золы фильтра, г	Содержание валового кремния, % SiO_2

Реактивы:

- 1) Na_2CO_3 безводный (плавень), тонко размолотый в порошок;
- 2) **раствор желатина 1%-ный**: 1 г пищевого желатина растворить в 99 мл дистиллированной воды при нагревании, постоянно помешивая стеклянной палочкой во избежание образования сгустков. В анализе используется только свежеприготовленный раствор;
- 3) **HCl концентрированная** (пл. 1,19);
- 4) **раствор HCl, разбавленный в соотношении 1:1 по объему**: 50 мл концентрированной соляной кислоты растворить в 50 мл дистиллированной воды;
- 5) **раствор HCl 1%-ный**: 2,37 мл конц. HCl (пл. 1,19) растворить в 50 мл дистиллированной воды (в мерной колбе на 100 мл) и довести водой до метки;
- 6) **раствор роданида калия (KSCN) 10%-ный**: 10 г соли растворяют в 90 мл дистиллированной воды.

4.1.2. Определение содержания подвижного кремния модифицированным методом Маллена и Райли с экстракцией кремния по В.В. Матыченкову

Принцип метода

Определение содержания доступного кремния в почве проводят экстрагированием актуальной и потенциальной его форм с помощью воды и соляной кислоты (0,1н) с последующим окрашиванием растворимых силикатов в молибденовую синь.

Колориметрическое определение кремния основано на реакции образования в слабокислых условиях желтой кремнемолибденовой гетерополи-кислоты состава $H_4[Si(Mo_3O_{10})_4] \cdot nH_2O$ с последующим разрушением фосформолибденовых соединений солями винной кислоты и восстановлением желтого комплекса до кремнемолибденовой сини оловянным восстановителем.

Ход анализа

Первый этап – получение водной и солянокислой вытяжек почвы

а) водная экстракция (из свежей почвы):

До начала анализа из образца почвы массой около 20 г (агрономически спелой, с влажностью 20-30%) тщательно удалить видимые растительные остатки и корешки, предварительно равномерно распределив его по поверхности чистой белой бумаги. Затем из подготовленной таким образом почвы

взять две навески (с точностью до 0,01 г): одну (основную) для определения содержания водорастворимого кремния и вторую навеску почвы для определения влажности (стр. 21).

Основную навеску почвы массой 6 г поместить в полиэтиленовый сосуд на 100 мл (лучше использовать специальные агрохимические кассеты) и прилить туда 30 мл дистиллированной воды. После этого 1 час встряхивать ее на ротаторе, затем в течение 10 мин. центрифугировать при 6000 об./мин.

Надосадочную жидкость в дальнейшем использовать для скорейшего окрашивания (второй этап анализа) и определения содержания монокремниевых кислот.

б) солянокислая экстракция (из воздушно-сухой почвы):

Для проведения анализа следует использовать воздушно-сухую почву, предварительно размолотую и просеянную через сито с диаметром ячеек в 1 мм.

Из подготовленной таким образом почвы взять навеску массой 2 г (с точностью до 0,01 г), поместить в полиэтиленовый сосуд (агрохимическую кассету) на 100 мл, залить 20 мл 0,1н раствора HCl и в течение 1 часа встряхивать суспензию на ротаторе. Затем надосадочную жидкость из кассеты перелить в центрифужную пробирку и в течение 10 минут при 6000 об./мин. разделить оставшуюся муть и жидкость.

После центрифугирования надосадочную жидкость использовать для окрашивания (второй этап анализа) и определения содержания монокремниевых кислот.

Второй этап – комплексное окрашивание вытяжек кремния

После центрифугирования суспензии почвы аликвоты исследуемых растворов актуального (водная вытяжка) и потенциального (солянокислая вытяжка) кремния по 5 мл каждая поместить в мерные колбы на 50 мл и разбавить дистиллированной водой до 25 мл. Содержимое колб нейтрализовать 10% раствором аммиака по фенолфталеину, затем добавить 3 мл ацетатного буфера и 5 мл 4,4% раствора молибдата аммония. Перемешав, оставить на 15 мин. Затем, для устранения мешающего влияния фосфатов, прилить 2 мл 20% раствора тартрата калия-натрия ($\text{NaKC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) и при постоянном помешивании добавить 5 мл взмученного оловянного восстановителя. После этого растворы в колбах довести до метки дистиллированной водой и через 20 мин. на спектрофотометре СРЕКОЛ в кюветах на 10 мм определить опти-

ческую плотность сине-зеленого раствора кремниевых кислот при λ 740 нм по отношению к холостому раствору.

Построение калибровочных графиков

Для определения содержания актуального (водорастворимого) и потенциального (кислоторастворимого) кремния следует построить 2 отдельных калибровочных графика.

Для этого необходимо взять две навески по 0,2026 г перекристаллизованного и высушенного силиката натрия (Na_2SiO_3) и растворить первую навеску в 1 л дистиллированной воды (стандартный раствор А), а вторую навеску – в 0,1н растворе HCl (стандартный раствор Б). В 1 мл полученных стандартных растворов будет содержаться по 0,1 мг SiO_2 .

После этого в мерную колбу на 100 мл взять 10 мл стандартного раствора А, довести до метки дистиллированной водой, получив, таким образом, исходный рабочий раствор № 1 (с концентрацией SiO_2 0,01 мг/мл) для построения калибровочного графика на актуальный кремний.

Исходный рабочий раствор № 2 (с концентрацией SiO_2 0,01 мг/мл) для графика на потенциальный кремний получают, поместив 10 мл стандартного раствора Б в мерную колбу на 100 мл и доведя ее до метки 0,1н раствором HCl .

Затем в мерных колбах на 50 мл, отдельно для актуального и потенциального кремния, приготовить две серии растворов с заведомо известной концентрацией SiO_2 , приливая последовательно в каждую из 6^{ти} колб указанные в таблице 4.1 объемы исходного рабочего раствора, которые в дальнейшем окрасить так же, как и исследуемые растворы надосадочной жидкости после центрифугирования суспензии почвы. При этом аликвоту в каждой колбе сначала довести до 25 мл дистиллированной водой, а далее – по прописи.

Концентрация SiO_2 и объем аликвоты в колбах соответствующих номеров показаны в таблице 4.1.

После окрашивания растворы колориметрировать на спектрофотометре SPEKOL при тех же параметрах, что и опытные вытяжки. По полученным данным построить калибровочный график.

Исходные данные для построения калибровочного графика

№ колбы	Количество исходного рабочего раствора Na ₂ SiO ₃ , мл	Содержание SiO ₂ , мг/50 мл раствора
1	1	0,01
2	2	0,02
3	5	0,05
4	10	0,10
5	15	0,15
6	20	0,20

Расчет результатов анализа

Полученное по графику содержание SiO₂ (мг/50 мл) пересчитать в мг/кг по следующей формуле:

$$C_{\text{SiO}_2} = A \times 1000 \times K_r / m, \quad (16)$$

где C_{SiO_2} – содержание актуального (потенциального) кремния в почве, мг/кг;

A – количество SiO₂ в мг/50 мл, найденное по калибровочному графику;

1000 – коэффициент пересчета на 1 кг почвы;

K_r – поправка на влажность почвы;

m – масса почвы, соответствующая объему вытяжки, взятому для колориметрирования, г.

ФОРМА ЗАПИСИ

№	Навеска почвы, г	Объем экстрагента (H ₂ O или HCl), мл	Объем раствора, взятый на анализ, мл	Показание прибора	Содержание SiO ₂ по графику, мг/50 мл	Содержание подвижной формы кремния, мг/кг
<i>актуальный кремний</i>						
<i>потенциальный кремний</i>						

Реактивы

- 1) **ацетатный буфер:** 40 г ацетата натрия и 116 мл конц. уксусной кислоты растворить в дистиллированной воде (в мерной колбе на 1 л), полученный раствор довести водой до метки;
- 2) **оловянный восстановитель:** 4 г безводного SnCl₂ растворить в 50 мл 10% раствора HCl при нагревании на водяной бане. Полученный раствор смешать с 200 мл 8,5% раствора щавелевой кислоты и подождать,

пока не появится муть (в опыте перед вливанием в колбу восстановитель взмучивают);

- 3) **раствор щавелевой кислоты 8,5%-ный** готовят растворением 8,5 г порошка кислоты в 91,5 мл дистиллированной воды при нагревании на асбестовой сетке;
- 4) **раствор HCl 0,1n**: 8,2 мл конц. HCl (пл. 1,19) прилить к 500 мл дистиллированной воды, налитой в мерную колбу на 1 л. Затем перемешать и довести раствор до метки;
- 5) **раствор фенолфталеина 1%-ный**: 1 г фенолфталеина растворить в 99 мл 96%-ного этилового спирта;
- 6) **раствор аммиака 10%-ный**: 42,2 мл концентрированного раствора аммиака (25%) влить в 40 мл дистиллированной воды (в мерной колбе на 100 мл), перемешать и довести водой до метки;
- 7) **раствор молибдата аммония 4,4%-ный**: 4,4 г соли растворить в 95,6 мл дистиллированной воды при нагревании на асбестовой сетке;
- 8) **раствор тартрата кали-натрия ($\text{NaKC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) 20%-ный**: 20 г виннокислого калия-натрия растворить в 80 мл дистиллированной воды при нагревании на асбестовой сетке.

4.1.3. Трактовка полученных результатов

По расчетам специалистов ежегодное мировое отчуждение кремния с урожаем сельскохозяйственных культур составляет порядка 224 млн. т., что приводит к быстрому снижению концентрации доступного для растений кремния, особенно в пахотном горизонте почвы. Дефицит монокремниевых соединений в почвенном растворе и, как следствие, уменьшение запаса в почве доступного кремнезема способствует разрушению органо-минеральных комплексов, ускоряет гидролиз органического вещества почвы, разрушительно влияет на ее минералогический состав.

Установлено, что содержание актуального кремния в почве примерно в 10 раз меньше, чем потенциального, так как при анализе в почвенный раствор переходит примерно 1/10 часть аморфного тонкодисперсного кремнезема, способного полностью переходить в солянокислую вытяжку. Но обе эти формы вполне доступны для растений, а их содержание в почве положено в основу классификации по обеспеченности ее кремниевыми соединениями. На основании учета содержания активного кремния, рассчитываемого по формуле (14), оценивают уровень баланса кремния в почве (табл. 4.2).

Градация почв по содержанию доступного кремния

Уровень баланса	Количество различных форм кремния в почве, мг/кг		
	актуальный Si	потенциальный Si	активный Si
Высокодефицитный	0 – 10	0 – 100	0 – 200
Среднедефицитный	11 – 20	101 – 300	201 – 500
Низкодефицитный	21 – 40	301 – 600	501 – 1000
Бездефицитный	> 40	> 600	> 1000

Характеристика уровней баланса доступного (активного) кремния в почве:

- 1) **высокодефицитный баланс** доступного Si наблюдается на сильно деградированных, прежде всего, песчаных почвах. Недостаток активных форм кремния существенно снижает урожайность сельскохозяйственных культур и эффективность вносимых агрохимикатов;
- 2) **среднедефицитный баланс** Si характерен для деградированных сельскохозяйственных угодий, а также почв с низким уровнем плодородия (например, дерново-подзолистых почв). Кремниевые удобрения и мелиоранты на таких почвах обеспечивают снижение скорости или прекращение деградации, а также снижение интенсивности эрозии почв и необходимый уровень кремниевого питания растений;
- 3) **низкодефицитный баланс** Si свойственен некультивируемым почвам с высоким и средним уровнем плодородия (например, серые лесные почвы). К почвам с низким уровнем дефицита кремния относятся также черноземы и другие почвы, имеющие высокий уровень плодородия и используемые в сельском хозяйстве. Кремниевые удобрения на таких почвах позволяют увеличить обеспеченность растений активным кремнием и эффективность применяемых минеральных и органических удобрений, а также средств защиты растений;
- 4) **бездефицитный баланс** доступного Si характерен для почв с высоким уровнем плодородия (пойменные, вулканические, некультивируемые черноземы). Кремниевые удобрения и мелиоранты на этих почвах могут быть использованы как средства для оптимизации фосфорного и азотного питания растений.

В целом баланс доступного для растений кремния при урожайности зерновых порядка 2,0-6,0 т/га всегда отрицателен и оценивается в 6-20 кг/га. Потерям кремния способствует инфильтрация его растворимых соединений в более глубокие слои и трансформация в малорастворимые формы, усиливающаяся на известкованных почвах с нейтральной реакцией среды. Значительный дефицит кремния наблюдается в почвах с высокой обеспеченностью их подвижными соединениями фосфора.

4.2. Определение содержания кремния в растениях

Кремний является макроэлементом питания растений зольного типа, при этом в золе растения он составляет основную массу. По выносу кремния биомассой все растения разделены на группу с повышенным выносом (однодольные семейства) и с невысоким выносом (двудольные семейства) кремния из почвы.

Установлено, что монокремниевые кислоты потребляются растениями в количестве, сопоставимом с выносом основных макроэлементов – азота, фосфора и калия. Так, для картофеля ежегодный вынос кремния составляет порядка 50-70 кг/га, для зерновых культур – 100-300 кг/га, у сахарного тростника он достигает 700 кг/га. Типичными кремниефилами являются рис, подсолнечник, сахарный тростник, злаковые и некоторые ягодные культуры (например, земляника). Также положительное действие кремнийсодержащих агроруд было установлено на бобах, томатах, бахчевых культурах, травах и цитрусовых.

При поглощении кремния растением в виде ионов орто- и метакремниевой кислот различной степени замещенности он аккумулируется в эпидермальных тканях в виде двойного кутикулярного слоя кремнийцеллюлозной мембраны, участвует в различных метаболических процессах пластического обмена, слагает стенки сосудистых (чаще – ксилемных) тканей или трансформируется в различные кремниевые фитолиты.

Физиологическая роль кремния в растительном организме сводится, главным образом, к его участию в процессах фосфорилирования сахаров, в процессах ассимиляции растением азота, калия, кальция, бора и других элементов. Наряду с фосфором, кремний является основой макроэргических связей АТФ клеток, может входить в состав нуклеотидов, влиять на актив-

ность фосфатазы, нитратредуктазы, инвертазы и прочих ферментов. Оптимизация кремниевого питания приводит к улучшению усвоения фосфора почвы, к увеличению массы корней и улучшению корневого питания в целом. Кремний также способствует ускорению созревания культур, увеличению количества продуктивных стеблей у злаковых и клубней у картофеля, повышает устойчивость соломины злаков к полеганию, а всех культур – к неблагоприятным условиям внешней среды, повышает механическую прочность тканей и снижает поражаемость культурных растений болезнями и вредителями.

Недостаток кремниевого питания отрицательно сказывается на урожайности растений и качестве получаемой продукции.

4.2.1. Определение содержания кремния в растениях по методу Г.А. Барсуковой

Принцип метода

Метод основан на мокром озолении растительного материала смесью концентрированных кислот с последующим высвобождением полимеров кремнекислоты из растительных тканей в виде геля и переводом полимеров в моно- и дикремниевые кислоты щелочным гидролизом. В полученном виде кремнекислоты определяются спектрофотометрически при их окрашивании в молибденовую синь.

Ход анализа

На первом этапе анализа растительный образец подвергается мокрому озолению и вытеснению поликремниевых кислот в раствор.

Для этого 0,1 г тонкоразмолотого воздушно-сухого растительного образца поместить в коническую колбу емкостью 50 мл и залить его смесью из 5-ти мл конц. HNO_3 и 1-го мл конц. H_2SO_4 , заранее приготовленной в химическом стакане или пробирке. Затем колбу поставить на кипящую водяную баню под тягу для озоления (разрушения органического вещества растений и выделения поликремниевых соединений).

Параллельно определить влажность растительного образца и вычислить K_r (стр. 21).

Через 30 минут колбу снять с кипящей бани на асбестовую сетку и осторожно, по каплям, помешивая, нейтрализовать находящийся в ней раствор 10% раствором NaOH по индикаторной бумаге, после чего в колбу дополнительно влить 5 мл этой же щелочи для подщелачивания среды. Колбу вновь поставить на слабокипящую баню и продолжать нагрев еще 10 мин.

По окончании озоления колбу снять с бани на асбестовую сетку под тягу и охладить, затем содержимое количественно перенести в мерную колбу на 250 мл и довести до метки бидистиллированной водой.

На втором этапе находящиеся в растворе кремниевые кислоты подвергаются окрашиванию.

Для этого в мерную колбу на 50 мл взять 5-10 мл раствора (в зависимости от предполагаемого содержания кремния в растительном материале), полученного после озоления растительного образца. Содержимое мерной колбы нейтрализовать 0,1н раствором H_2SO_4 до pH 2,0 по индикаторной бумаге.

Далее туда же прилить 2 мл 10% раствора молибдата аммония и выдержать в течение 10 минут до образования желтого кремниймолибденового комплекса. Затем добавить 10 мл 10н раствора H_2SO_4 для разрушения мешающих окрашиванию фосформолибденовых комплексов, прилить при постоянном помешивании 1 мл 1% раствора $SnCl_2$, довести водой до метки и через 5 мин. на спектрофотометре SPEKOL в кюветах на 10 мм определить оптическую плотность раствора при λ 640 нм по отношению к холостому раствору.

Построение калибровочного графика

Для построения графика взять навеску 0,014 г перекристаллизованного и высушенного силиката натрия (Na_2SiO_3) и растворить ее в 1 л бидистиллированной воды. В 1 мл полученного стандартного раствора содержится 0,007 мг SiO_2 (7 мкг SiO_2).

Затем в 6 мерных колб на 50 мл прилить указанные в таблице 4.3 объемы стандартного раствора, после чего произвести окрашивание растворов аналогично окрашиванию опытной пробы. По полученным данным построить калибровочный график.

Таблица 4.3

Исходные данные для построения калибровочного графика

№ колбы	Количество стандартного раствора Na ₂ SiO ₃ , мл	Содержание SiO ₂ , мкг/50 мл раствора
1	0,1	0,7
2	0,5	3,5
3	1,0	7,0
4	2,0	14,0
5	5,0	35,0
6	10,0	70,0

Расчет результатов анализа

Полученное по графику содержание SiO₂ (мкг/50 мл) пересчитывают в % SiO₂ абс.-сух. растительного материала по следующей формуле:

$$C_{\text{SiO}_2} = (A \times V_1 \times 100 \times K_r) / (V_2 \times m \times 1000), \quad (17)$$

где C_{SiO_2} – содержание кремния в растительном образце, % на абс.-сух. в-во;

A – количество SiO₂ в растворе по калибровочному графику, мкг/50 мл;

V₁ – общий объем раствора после озоления растительного образца, мл;

100 – коэффициент пересчета в %;

V₂ – объем раствора, взятый на анализ, мл;

m – масса навески растительного образца, мг;

1000 – коэффициент пересчета мкг в мг;

K_r – поправка на влажность растительного образца.

ФОРМА ЗАПИСИ

№	Навеска растительного образца, мг	Общий объем после озоления, мл	Объем раствора, взятый на анализ, мл	Показания прибора	Содержание SiO ₂ по графику, мкг/50 мл	Содержание кремния в растении, % SiO ₂

Реактивы

- 1) **смесь концентрированных азотной и серной кислот в соотношении 5:1 по объему:** 5 мл конц. HNO₃ (пл. 1,40) и 1 мл конц. H₂SO₄ (пл. 1,84) смешать в химическом стаканчике;
- 2) **раствор NaOH 10%-ный:** 10 г едкого натра растворить в 90 мл дистиллированной воды при нагревании на асбестовой сетке;

- 3) **раствор H_2SO_4 10n:** 280 мл конц. серной кислоты (пл. 1,84) влить в 500 мл дистиллированной воды в мерной колбе на 1 л, перемешать и довести водой до метки;
- 4) **раствор H_2SO_4 0,1n:** 2,8 мл конц. серной кислоты (пл. 1,84) влить в 500 мл дистиллированной воды в мерной колбе на 1 л, перемешать и довести водой до метки;
- 5) **раствор молибдата аммония 10%-ный:** 10 г молибденовокислого аммония растворить в 90 мл дистиллированной воды при нагревании на асбестовой сетке;
- 6) **раствор $SnCl_2$ 1%-ный:** 1 г безводного двухлористого олова растворить в 99 мл 10% раствора HCl при длительном нагревании на водяной бане.

4.2.2. Трактовка полученных результатов

Содержание кремния в растениях – один из показателей, которые учитывают при оценке продуктивности и качества растений с учетом развития отдельных его органов и частей. Соотнеся концентрацию кремниевых соединений со среднестатистическими данными (табл. 4.4 и 4.5), можно сделать относительный вывод об уровне кремниевого питания, что в дальнейшем позволит предусмотреть варианты поддержания оптимальной концентрации монокремниевых соединений в почвенном растворе и контроля над кремниевым состоянием пахотных почв.

Таблица 4.4

Ориентировочное содержание кремния (SiO_2)
в различных частях зерновых культур, % на сухое вещество

Культура	Зерно	Солома (стебли)	Листья	Корни
Пшеница	0,01 - 0,16	0,6 - 2,24	-*	3,11
Рожь	0,04 - 0,46	1,06 - 1,78	-	1,23
Ячмень	0,42	1,54	-	-
Овес	0,99	5,96	2,05	2,43 - 3,74
Рис	11,0	3,7 - 5,6	6,02	2,74
Кукуруза	0,04	0,83	-	0,78

* - нет данных

В целом, определение концентрации общих и доступных для растений силикатов в почве, а также содержания кремния в растениях, является характеристикой питательного режима почвы, дополняющей всю совокупность сведений об основных, традиционных, элементах питания – азоте, фосфоре и калии.

Таблица 4.5

Ориентировочное содержание кремния в среднем в растениях,
% на сухое вещество

Растение	SiO ₂ , %	Растение	SiO ₂ , %
Подсолнечник	3,60	Табак	0,16 - 0,65
Сахарная свекла	0,70	Какао	2,08 - 2,90
Люцерна	0,75	Хвощ	0,7 - 8,99
Салат	1,32	Ель	0,31 - 1,75
Хлопчатник	0,28 - 0,71	Картофель	4,32 / 2,04*

* - клубни / ботва

Полученная информация позволит дать более полную агрономическую и агроэкологическую характеристику анализируемой почвы, оценить ее стабильность и предусмотреть значительно большее количество вариантов улучшения ее свойств для получения высоких и полноценных по качеству урожаев сельскохозяйственных культур.

Вопросы для контроля
и самопроверки

1. Назовите формы кремния в почве.
2. В чем заключается значение кремния в формировании плодородия почвы?
3. Охарактеризуйте физиологическую роль кремния в растениях.
4. Как влияет кремний на формирование урожая культурных растений?
5. Какие негативные последствия возможны при дефиците монокремниевых кислот в пахотном слое почв?

5. БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЧВ

Система почвенно-экологического мониторинга в настоящее время в целом базируется на определении содержания загрязнителей в почве и оценке ее состояния путем сравнения фактических данных с ПДК (ОДК). Однако, осознавая всю ценность и необходимость подхода, основанного на анализе химического состава почв, нельзя не признать его ограниченность при оценке экологических рисков и степени воздействия на биотический компонент природных и антропогенных экосистем. В связи с этим все более перспективным считается использование комплекса показателей, характеризующих биологическую активность почвы, которые отражают масштабы и направление процессов превращения веществ и энергии в природных экосистемах, интенсивность переработки органических остатков и разрушения минералов.

Оценивая микробиологические свойства почвы, проводят как количественную оценку состава почвенной микрофлоры, так и определение интенсивности протекания различных биохимических процессов в почве. Основой определения численности физиологических групп микроорганизмов является применение селективных питательных сред, благоприятных для развития определенных микроорганизмов (например, мясо-пептонный, глицериново-пептонный, крахмал-аммиачный и другие формы агара).

Для характеристики биологической активности почвы используют суммарные (интегральные) методы, позволяющие оценить интенсивность минерализационных процессов, осуществляемых микроорганизмами. Они условно делятся на 2 группы. Одни из них позволяют измерить актуальную, а другие – потенциальную активность.

Актуальную активность измеряют в естественных условиях непосредственно в поле или в модельных опытах без внесения в почву какого-либо дополнительного энергоемкого материала.

Потенциальную активность определяют в контролируемых условиях лабораторных опытов (температура, влажность, аэрация и др.), добавляя в нее различные вещества, трансформацию которых предполагается исследовать.

Показатели биологической активности могут использоваться в целях ранней диагностики негативных изменений свойств почв. Они позволяют

обнаружить тенденции и скорость происходящих в почве изменений, остановить неблагоприятные процессы на ранней стадии их развития, а также судить о степени опасности поллютантов. В связи с этим они, в комплексе с остальной информацией о состоянии почвенной экосистемы, активно используются при осуществлении почвенно-экологического мониторинга. Изучение биологической активности почв может быть даже более предпочтительным, чем прямое определение содержания в почвах отдельных токсичных веществ, поскольку позволяет судить о суммарном (интегральном) влиянии всего набора факторов, воздействующего на определенный участок почвенного покрова.

Биологическую активность почв определяют с помощью микробиологических и биохимических методов.

К микробиологическим методам относят прямые методы, позволяющие определять численность микроорганизмов разных систематических групп, а также аппликационные методы, по сути, являющиеся косвенными методами оценки микробиологической активности почв. Однако, учитывая то, что почвенный микробный комплекс, осуществляющий разложение мертвого органического вещества, чрезвычайно сложен и прямой мониторинг его состояния весьма затруднителен, именно аппликационные методы имеют исключительно большое значение в экологических исследованиях.

В группу биохимических методов определения биологической активности почв включают методы по определению ферментативной активности и методы определения дыхания почв.

Перечень необходимых для усвоения студентами знаний и умений

После изучения темы студент должен знать:

- общие принципы и методики определения основных показателей биологической активности почв;
- области применения оценок биологической активности почв.

Студент должен уметь:

- грамотно провести отбор почвенных проб;
- определить актуальную и (или) потенциальную биологическую активность почв, используя микробиологические аппликационные методы;
- установить интенсивность протекания различных биохимических процессов в почве посредством определения ферментативной активности или дыхания;
- используя показатели биологической активности почв, оценить степень антропогенного воздействия на почвы и масштабы их деградации.

5.1. Аппликационные методы

Среди этой группы методов определения микробиологических свойств почв выделяют методы, позволяющие анализировать ее в лабораторных условиях (лабораторные методы) и в естественном состоянии (полевые методы).

5.1.1. Определение целлюлолитической активности почв (полевой метод)

Любое нарушение деятельности микроорганизмов, которое может быть обусловлено антропогенной нагрузкой большей или меньшей интенсивности, может вызвать подавление функций, ими выполняемых, и, прежде всего, способности к разложению отмершей биомассы. Результатом этого может быть накопление в почве грубого органического вещества, связывающего в недоступном для растений состоянии значительное количество биогенных элементов.

В свою очередь, интенсивность его разложения, являющаяся следствием микробиологической активности и свидетельствующая о возвращении аккумулированных в ней элементов питания в активную часть биологического круговорота, может служить показателем экологического благополучия изучаемой территории.

Принцип метода

Данный метод основан на определении интенсивности разложения куска ткани (лен), помещенного в почву на определенный промежуток времени. Количество ткани, разложившееся за время опыта, используется как показатель целлюлолитической активности почвы.

Ход анализа

Для анализа следует взять кусочек льняной неотбеленной ткани размером 30x50 мм, высушить его при 105°C, выдержать 2 часа при комнатной температуре и взвесить на аналитических весах. Ткань поместить в пакет из инертного материала (нейлон) с отверстиями около 1 мм. При изучении лесной подстилки пакет поместить горизонтально на ее поверхности и покрыть

слоем той же подстилки. При изучении почвы пакет с тканью уложить в слой 0-5 см под углом 15° с помощью штыковой лопаты.

После завершения опыта пакет с тканью извлечь из почвы, осторожно очистить от проросших корешков. Ткань высушить при 105°С и выдержать 2 часа при комнатной температуре. После этого ткань взвесить. Потеря в массе (в %) служит показателем микробиологической активности почвы.

Срок проведения эксперимента может варьировать в зависимости от цели исследования. При изучении естественных экосистем образец ткани закладывается в сентябре-октябре и извлекается через год (два, три). В агро-экосистемах несколько образцов одновременно закладываются сразу после весенних обработок почвы и последовательно извлекаются с интервалом в один, два или три месяца. Повторность опыта 3-5-кратная.

Для агроэкосистем Д.С. Звягинцевым предложена следующая шкала интенсивности разрушения клетчатки – целлюлолитической активности в полевых условиях (ЦАП), в % за вегетационный сезон: очень слабая <10; слабая – 10-30; средняя – 30-50; сильная – 50-80; очень сильная >80.

5.1.2. Определение активности разложения целлюлозы (лабораторный метод)

Принцип метода

В лабораторных условиях активность разложения целлюлозы в почве определяют модифицированным методом Кристенсена. *Метод основан на учете интенсивности разложения целлюлозы (фильтровальная бумага) в чашках Петри при оптимальных для развития микроорганизмов температуре и влажности. По разнице в массе (в %) фильтровальной бумаги до и после инкубации образца судят об интенсивности целлюлолитической активности почвы в лабораторных условиях (ЦАЛ).*

Ход работы

Опыт ставится в пятикратной повторности.

На дно стерильной чашки Петри поместить предварительно взвешенный на аналитических весах с погрешностью 0,001 г стерильный диск фильтровальной бумаги (выдержанный в сушильном шкафу при 105° С в течение 2 часов) диаметром 7 см. Бумажный фильтр прикрыть сеткой из ка-

проновой ткани, на которую поместить 25-40 г почвы, увлажненной до 60% от полной влагоемкости.

Чашки взвесить, поместить в термостат и инкубировать при температуре 27⁰ С. Ежедневно чашки следует взвешивать и доводить до исходной массы водой, равномерно распределяя ее по поверхности чашки. Через 10, 20 и 30 дней провести наблюдения за развитием целлюлозоразлагающих бактерий на фильтровальной бумаге со дна чашки.

Учет разложившейся целлюлозы провести спустя 30 дней. Для этого почву высыпать из чашки, отделить капроновую ткань, остатки фильтровальной бумаги счистить со дна чашки, высушить при температуре 105⁰С и взвесить. Оценить степень разложения целлюлозы по разности между исходным и конечным весом фильтровальной бумаги, выраженным в мг на чашку или в % от исходной массы.

В случае необходимости более детальных исследований можно проанализировать комплекс целлюлозоразлагающих микроорганизмов, развивающихся на фильтровальной бумаге. Для этого описывают характер разложения и пигментации целлюлозы. Дается общая характеристика развития бактерий, грибов и актиномицетов. Можно отобрать пробы для микроскопического анализа или провести микробиологический анализ путем высева пробы фильтровальной бумаги на соответствующие питательные среды.

Если исследователь ставит задачу определения полной потенциальной способности почвы к разложению клетчатки, то можно использовать описанную выше методику, но при размещении на дно чашки взвешенной фильтровальной бумаги ее предварительно смачивают 3 мл раствора сернокислого аммония. Раствор (NH₄)₂SO₄ должен содержать 4 мг/мл этой соли.

Для сравнения одновременно ставят опыт со смачиванием фильтра дистиллированной водой (3 мл).

5.2. Биохимические методы

5.2.1. Ферментативная активность

Ферменты – биологические катализаторы, ускоряющие в сотни и тысячи раз биохимические реакции в живых организмах. По химической природе это белки, иногда рибонуклеиновые кислоты. Их определение основано

на учете количества субстрата, переработанного в процессе реакции за определенный промежуток времени, в оптимальных условиях температуры, pH и концентрации субстрата.

В результате жизнедеятельности и отмирания растений, животных и микроорганизмов в почву поступают разнообразные экзо- и эндоферменты. Подвергаясь иммобилизации, ферменты в почве стабилизируются и в течение длительного времени сохраняют свою активность. В почве ферменты участвуют в важнейших биохимических процессах: синтезе и распаде гумуса, гидролизе органических соединений, остатков высших растений и микроорганизмов, в окислительно-восстановительных процессах и т.д. Например, полифенолоксидаза (ПФО) участвует в превращении органических соединений ароматического ряда в компоненты гумуса в почве, в частности, катализирует окисление фенолов до хинонов в присутствии кислорода воздуха. Хиноны в соответствующих условиях при конденсации с аминокислотами и пептидами образуют первичные молекулы гуминовой кислоты. Пероксидаза катализирует окисление органических веществ почв (фенолов, аминов, некоторых гетероциклических соединений) за счет кислорода перекиси водорода и других органических перекисей. Дегидрогеназа катализирует реакцию отнятия водорода от окисляемого субстрата (дегидрирование).

По типу катализируемых реакций все известные ферменты разделены на 6 классов:

- 1) оксидоредуктазы, катализирующие окислительно-восстановительные реакции;
- 2) гидролазы, катализирующие реакции гидролитического расщепления внутримолекулярных связей в различных соединениях;
- 3) трансферазы, катализирующие реакции межмолекулярного и внутримолекулярного переноса химической группы и остатков с одновременным переносом энергии, заключенной в химических связях;
- 4) лигазы (синтетазы), катализирующие реакции соединения двух молекул, сопряженные с расщеплением пирофосфатных связей АТФ или другого аналогичного трифосфата;
- 5) лиазы, катализирующие реакции негидролитического отщепления или присоединения различных химических групп органических соединений по двойным связям;

б) изомеразы, катализирующие реакции превращения органических соединений в их изомеры.

В почве наиболее широко распространены и довольно подробно изучены оксидоредуктазы и гидролазы, имеющие очень важное значение в почвенной биодинамике.

5.2.1.1. Специфика отбора почвенных проб и подготовки их к анализам

Методика отбора почвенных проб определяется поставленной перед исследователем задачей и спецификой изучаемого объекта. *Во всех случаях образцы почв должны наиболее полно характеризовать исследуемую площадь как по почвенному покрову, так и по осуществляемым мероприятиям и влиянию естественных факторов:* растительности, рельефа и т.п. Количество анализируемых образцов зависит от характеризуемого объекта и целей исследования. Анализируются индивидуальные и смешанные образцы.

В полевых опытах на каждую стометровую делянку методом конверта берут 5 объединенных проб, каждую из которых составляют из 5-7 точечных. Если делянка меньше 100 м², то достаточно взять 3 объединенные пробы, составленные из 3-5 точечных, отобранных по диагонали. Каждая объединенная проба анализируется отдельно.

При изучении естественных почв следует учитывать, что максимальная ферментативная активность в них отмечается в слое 0-5 см, поэтому этот слой целесообразно анализировать отдельно. При изучении пахотных почв образцы берут на всю глубину пахотного слоя, предварительно удалив верхний загрязненный слой, если не ставится задача определения влияния загрязнения на ферментативную активность почвы. *Пахотный слой можно расчленить на 2-3 слоя.* Следует учитывать, что в летние месяцы слой 0-5 см может сильно иссушаться и активность ферментов в нем снижается, а в условиях нормального увлажнения и теплообеспеченности он характеризуется максимальной активностью.

При исследовании влияния удобрений и агротехнических приемов на биохимические процессы, протекающие в почвах, пробы отбирают несколько раз в течение вегетационного сезона. Сроки отбора лучше приурочить к фазам развития опытных культур.

При изучении изменения активности ферментов по почвенному профилю индивидуальные образцы берутся из свежесрезанного разреза по генетическим горизонтам из той части горизонта, в которой морфологические признаки, присущие данному горизонту, выражены наиболее сильно. Отбор образцов производят последовательно, начиная от нижнего горизонта почвы к верхним, предварительно очистив и освежив места взятия образца.

Для сравнительной характеристики различных типов почв по ферментативной активности можно ограничиваться одноразовым в течение года определением, но образцы должны быть отобраны в одни и те же сроки, желательно до начала вегетации (весной) или в конце вегетации (осенью) в целях исключения влияния на ферментативную активность живых корней растений.

Активность ферментов может определяться в свежих или в высушенных до воздушно-сухого состояния образцах, а численно выражаться, чаще всего, в пересчете на абсолютно-сухое вещество. Высушивание производят непосредственно после взятия образца в полевых условиях или в хорошо проветриваемом помещении, но обязательно в тени и как можно быстрее. Почву следует часто перемешивать. Условия высушивания и хранения всех отобранных образцов должны быть одинаковыми. Высушенные или свежие образцы до исследования хранят в холодильнике при 4°C в полиэтиленовых мешках или в герметично закрытых сосудах.

Перед анализами почву тщательно очищают от корней растений и других растительных остатков, камней и прочих включений. Высушенные пробы растирают и просеивают через сито с диаметром отверстий 0,25-1,00 мм. При анализе свежих образцов необходимо разрушить структурные агрегаты. Для этого навеску почвы увлажняют небольшой аликвотой применяемого при анализе буферного раствора и растирают до пастообразного состояния резиновым пестиком.

Во всех случаях при определении ферментативной активности обязательно указывают, в каких образцах почвы (свежих, естественно-влажных или сухих) выполнены анализы. Ферментативную активность определяют в нескольких повторениях и проводят статистическую обработку данных.

5.2.1.2. Общие принципы методов определения

активности ферментов в почве

Биохимические методы позволяют определять активность ферментов, находящихся преимущественно в адсорбированном состоянии на поверхности почвенных коллоидов и частично в почвенном растворе. *Определение активности ферментов более предпочтительно, чем прямое определение их содержания в почве*, так как последнее связано с большими затруднениями аналитического характера, что часто делает методы определения содержания ферментов непригодными для почвенно-экологического мониторинга. В то же время показатели активности ферментов дают не меньше информации о состоянии почвы. Их *определение сводится к установлению каталитического действия почвенной пробы на процессы превращения соответствующих органических и минеральных соединений (субстратов), вносимых в почву.*

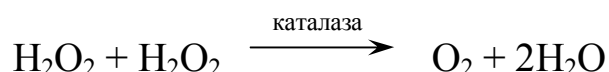
Практически все биохимические методы имеют следующую последовательность операций:

- 1) навеска почвы насыщается антисептиком в целях инактивации живых микроорганизмов, находящихся в почве и мешающих проведению анализа. В качестве антисептика обычно применяется толуол. Кроме того, могут использоваться ртутные препараты (мертиолят, сулема и т.д.), а также высокоэнергетическое ионизирующее излучение;
- 2) добавляется буферный раствор со значением рН, оптимальным для данного фермента. Это связано с тем, что максимальная активность ферментов проявляется лишь в узком интервале значений рН, который называют оптимумом действия данного фермента. Как уменьшение, так и увеличение рН приводит к снижению активности ферментов, в связи с чем поддержание оптимального и постоянного значения рН в реакционной среде на протяжении опыта является одним из важнейших условий;
- 3) добавляется определенное количество субстрата. В качестве субстрата может использоваться вещество, превращение которого происходит исключительно под действием изучаемого фермента и не поддается действию других. После этого реакционная смесь выдерживается в течение определенного времени в термостате при температуре, оптимальной для протекания необходимой реакции (как правило, при 30-37° С);

- 4) проводится качественный или количественный учет продуктов реакции. Для этого используются самые разнообразные химические, физические и физико-химические методы: титрование, гравиметрия, фотометрия, колориметрия, поляриметрия и другие методы;
- 5) производится расчет активности фермента, которая выражается в количестве переработанного субстрата или образующегося в течение определенного промежутка времени продукта реакции и рассчитывается на единицу массы почвы.

5.2.1.3. Определение активности каталазы (метод А.Ш. Галстяна)

Фермент *каталаза* относится к классу *оксидоредуктаз* и катализирует реакцию разложения перекиси водорода на воду и молекулярный кислород:



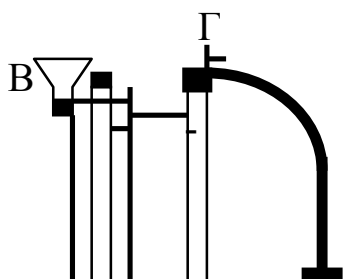
Перекись водорода образуется в процессе дыхания живых организмов и в результате биохимических реакций окисления органических веществ. Роль каталазы в живом организме и в почве заключается в том, что она разрушает ядовитую для растений перекись водорода.

Принцип метода

Методы определения каталазной активности почвы основаны на измерении скорости распада перекиси водорода при взаимодействии ее с почвой по объему выделяющегося кислорода (газометрические методы) или по количеству неразложившейся перекиси, которое устанавливают перманганатометрическим титрованием или колориметрическим методом с образованием окрашенных комплексов. Более просты и точны газометрические методы.

Ход анализа

Навеску почвы (1 г) поместить в колбу *A* (каталазник) емкостью 250 мл, добавить 0,5 г CaCO_3 . На дно колбы осторожно, с помощью пинцета, поставить маленький стаканчик *E* с 5 мл 3%-ного раство-



Д - Б ра перекиси водорода. Колбу плотно закрыть пробкой со стеклянной трубкой, которая соединена с измерительной бюреткой *Б* с помощью толстостенного резинового шланга через тройник *Г* с уравнивающей бюреткой *Д* и грушевидной воронкой *В*.

А Е

Рис. 3. Схема прибора

Бюретки и грушу заполнить водой. Уровень воды в бюретках и воронке уравновесить, поднимая или опуская воронку. В дальнейшем последнюю закрепить на определенной высоте. Тройник *Г* при этом должен быть открыт. Затем закрыть тройник таким образом, чтобы устранить сообщение прибора с внешней средой.

Опыт следует проводить при температуре 18-20°C.

Опрокинуть сосуд *Е* с перекисью, отметив этот момент по секундомеру как начало опыта, колбу *А* поставить на магнитную мешалку. Взбалтывание проводить в течение всего опыта, не касаясь колбы руками. Выделяющийся кислород вытесняет из бюретки воду. Уровень воды в измерительной бюретке *Б* отметить через 1 и 2 мин после начала опыта.

Контролем служит стерилизованная сухим жаром (180°) почва. Активность каталазы выражается в см³ O₂, выделяющегося за 1 мин на 1 г почвы.

Расчет результатов анализа

Значение каталазной активности (**КА**) рассчитывается следующим образом. Определяется количество O₂, выделившееся из каталазника в среднем за 1 минуту. Из полученного значения вычитается количество O₂, выделившееся при проведении контрольного опыта со стерилизованной почвой. Разница представляет собой искомое значение каталазной активности почвы, выраженное в O₂ см³/г/мин. Оценка результата производится с использованием таблицы 5.3.

ФОРМА ЗАПИСИ

Образец	Навеска почвы, г	Отсчет по бюретке, мл			КА, O ₂ см ³ /г/мин	Оценка активности
		1 мин.	2 мин.	среднее за 1 мин		
Почва						
Контроль						

Реактивы

1) **CaCO₃**, сухой реактив;

2) *раствор H_2O_2 3%-ный*: концентрацию перекиси проверяют периодически, рабочий раствор готовят непосредственно перед анализом.

Для установления концентрации перекиси на аналитических весах в мерной колбе емкостью 100 мл взвесить 1 г H_2O_2 , объем довести до метки и взболтать. Взять 2 мл полученного раствора в конические колбы на 250 мл (3 повторности), добавить 50 мл дистиллированной воды и 2 мл 20%-ной H_2SO_4 и оттитровать 0,1н $KMnO_4$. 1 мл 0,1н $KMnO_4$ соответствует 0,0017008 г H_2O_2 .

После установления исходной концентрации перекиси ее 3%-ный раствор готовят разбавлением дистиллированной водой.

5.2.1.4. Определение активности инвертазы (метод В.Ф. Купревича и Т.А. Щербаковой)

Фермент *инвертаза* относится к группе глюкозидгидролаз (гидролазы). Глюкозидгидролазы – это большая группа ферментов, катализирующих гидролиз ди-, три- и полисахаридов по глюкозидным связям в их молекулах.

Углеводы и близкие к ним вещества в почвенном органическом веществе, микроорганизмах и растениях содержатся в значительном количестве. Из углеводов в почве обнаружены моно-, ди- и полисахариды (целлюлозы, гемицеллюлозы, крахмал и др.), поступающие туда главным образом в виде растительных остатков (до 60% массы растительных остатков составляют углеводы). В биохимическом превращении каждого углевода участвует специфический фермент или группа ферментов. Инвертаза катализирует реакцию гидролиза сахарозы на глюкозу и фруктозу.

Инвертазу обнаруживают во всех почвах и она является одним из важных ферментов, характеризующих биологическую активность почвы. Уровень инвертазной активности отражает содержание в почве легкогидролизуемых углеводов, которые служат энергетическим материалом для всех почвенных гетеротрофов. Для определения ее активности используют химические и физические методы. В данном пособии рассматривается метод, основанный на измерении количества редуцирующих гексоз (глюкозы и фруктозы), образующихся при гидролизе сахарозы. Сумму редуцирующих гексоз выражают в глюкозном эквиваленте.

Принцип метода

Метод основан на способности глюкозы и фруктозы, образующихся при гидролизе сахарозы, восстанавливать медь, содержащуюся в растворе Феллинга. По количеству образовавшейся закиси меди определяют их содержание в растворе. Поскольку катализатором образования данных сахаров является инвертаза, то по количеству гексоз судят об инвертазной активности почвы.

Ход анализа

2 г почвы поместить в коническую колбу емкостью 100 мл, добавить 15 мл 8%-ной сахарозы, 5 мл ацетатного буфера (рН 4,9) и 4 капли толуола. Содержимое колбы взболтать, закрыть корковой пробкой и поставить в термостат на 24 часа при температуре 29-30°C. Параллельно определить влажность почвенного образца и вычислить K_r (стр. 22).

После инкубации колбу нагреть на плитке до кипения для прекращения действия ферментов. Далее суспензию профильтровать. Затем 8 мл фильтрата перенести в стеклянный бюкс, предварительно взвешенный на аналитических весах. К фильтрату прибавить 6 мл свежеприготовленного раствора Феллинга и кипятить смесь в течение 2 мин. После этого бюкс снять с плитки и в течение 1 часа смесь отстаивать для получения осадка закиси меди. Осторожно, не взбалтывая осадка, надосадочную жидкость отсосать пипеткой с резиновой грушей. Закись меди дважды промыть горячей дистиллированной водой, удаляя воду пипеткой, после чего бюксы с осадком поместить в сушильный шкаф при температуре 60-70° С и сушить до постоянного веса. Далее найти вес осадка закиси меди в 8 мл раствора: умножить полученное значение на коэффициент 0,888 (для пересчета массы закиси меди в чистую медь), пересчитать этот вес на весь объем раствора (20 мл) и по таблице 5.1 высчитать количество глюкозы, соответствующее найденному количеству меди.

Активность инвертазы выражают в миллиграммах глюкозы на 1 г почвы при экспозиции 24 часа. Контролем служит почва, простерилизованная в автоклаве в течение 1 часа при 2 атм.

Таблица 5.1

Количество глюкозы (в мг), эквивалентное количеству меди (в мг)
(по Петербургскому, 1963)

Сахар	Медь	Сахар	Медь	Сахар	Медь	Сахар	Медь
-------	------	-------	------	-------	------	-------	------

10	20,4	33	64,6	56	105,8	79	144,5
11	22,4	34	66,5	57	107,6	80	146,1
12	24,3	35	68,3	58	109,3	81	147,7
13	26,3	36	70,1	59	111,1	82	149,3
14	28,3	37	72,0	60	112,8	83	150,9
15	30,2	38	73,8	61	114,5	84	152,5
16	32,2	39	75,7	62	116,2	85	154,0
17	34,2	40	77,5	63	117,9	86	155,6
18	36,2	41	79,3	64	119,6	87	157,2
19	38,1	42	81,1	65	121,3	88	158,8
20	40,1	43	82,9	66	123,0	89	160,4
21	42,1	44	84,7	67	124,7	90	162,0
22	43,9	45	86,4	68	126,4	91	163,6
23	45,8	46	88,2	69	128,1	92	165,2
24	47,7	47	90,0	70	129,8	93	166,7
25	49,6	48	91,8	71	131,4	94	168,3
26	51,5	49	93,6	72	133,1	95	169,9
27	53,4	50	95,4	73	134,7	96	171,5
28	55,3	51	97,1	74	136,3	97	173,1
29	57,2	52	98,9	75	137,9	98	174,6
30	59,1	53	100,6	76	139,6	99	176,2
31	60,9	54	102,3	77	141,2	100	177,8
32	62,8	55	104,1	78	142,8		

Расчет результатов анализа

Пример: в ходе опыта в бюксе образовалось 40 мг закиси меди. Пересчитаем это количество на массу чистой меди: $40 \times 0,888 = 35,52$ мг.

Оно соответствует 8 мл реактива Феллинга, а 20 мл реактива – 88,8 мг меди ($35,52 \times 2,5$). По таблице 5.1 находим два числа, между которыми располагается эта величина: 88,2 мг меди эквивалентно 46 мг глюкозы, а 90,0 мг – 47 мг глюкозы. Находим разницу: $90,0 - 88,2 = 1,8$ меди. Следовательно, 1 мг глюкозы ($47 - 46$ мг) соответствует 1,8 мг меди, а 1,2 мг меди ($90,0 - 88,8$) будет соответствовать 0,67 мг глюкозы: $(1,2 \times 1,0) / 1,8$.

Таким образом, искомая величина глюкозы, отвечающая 88,8 мг меди, составит из следующих данных: $46 + 0,67 = 46,67$ мг глюкозы.

Полученный результат делим на 2 для пересчета на 1 г почвы и умножаем на коэффициент гигроскопичности K_r . Из полученного при этом значения вычитаем результат определения в контрольном простерилизованном образце. Конечная оценка значения инвертазной активности (ИА) производится с использованием таблицы 5.3.

Реактивы

- 1) **раствор сахарозы 8%-ный**: 80 г сахарозы растворить в 920 мл дистиллированной воды;
- 2) **ацетатный буфер (рН 4,9)**: а) 136,1 г CH_3COONa растворить в дистиллированной воде и довести до 1 л; б) 82 мл концентрированной HCl (d 1,19 г/см³) растворить в дистиллированной воде и довести до 1 л; в) 50 мл раствора ацетата натрия смешать с 16 мл раствора HCl и разбавить водой до 250 мл;
- 3) **раствор Феллинга**: а) 40 г $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ растворить в дистиллированной воде, довести до 1 л и профильтровать через бумажный фильтр; б) 200 г сегнетовой соли $\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6\text{KNa} \times 4\text{H}_2\text{O}$ растворить в дистиллированной воде, прибавить 150 г KOH или NaOH , довести до 1 л и отфильтровать; в) перед употреблением первый и второй раствор смешать в соотношении 1:1.

ФОРМА ЗАПИСИ

Образец	Навеска почвы, г	Объем р-ра, взятый для осаждения, мл	Масса осадка, мг	Кол-во глюкозы, найденное по таблице, мг	ИА, мг глюкозы на 1 г почвы за 24 ч	Оценка активности
Почва Контроль						

5.2.1.5. Определение активности фосфатазы (метод А.Ш. Галстяна)

Фосфатазы относятся к группе ферментов, катализирующих гидролиз фосфорорганических соединений по фосфоэфирным связям. При этом происходит отщепление остатков фосфорной кислоты и фосфор органических соединений переходит в доступное для растений состояние. Активность фосфатаз, таким образом, характеризует интенсивность биохимических процессов мобилизации органического фосфора почвы.

Принцип метода

При определении фосфатазной активности почвы (**ФА**) в качестве субстрата используют натриевую соль п-нитрофенилфосфата, при ферментативном гидролизе которой выделяется минеральный фосфор и органический радикал субстрата – п-нитрофенол. Метод основан на учете ко-

личества органической части гидролизованного субстрата (*p*-нитрофенола), которая в щелочной среде дает желтую окраску.

Фосфатазы почвы очень чувствительны к изменению рН почвы, поэтому при измерении фосфатазной активности используют буферный раствор с рН 8,0 для нейтральных и слабощелочных почв и буферный раствор с рН 5,4 для кислых почв. В подобных случаях определяют соответственно фосфатазную активность кислых почв (или *кислую фосфатазу*) и фосфатазную активность щелочных почв (или *щелочную фосфатазу*). Общую активность фосфатаз (*общую фосфатазу*) определяют при естественной рН почвы, т.е. без добавления буферного раствора.

Ход работы

Навеску почвы 1 г, взвешенную с точностью до 0,01 г, поместить в коническую колбу емкостью 50 мл, добавить 3 мл 0,5% водного раствора натриевой соли *p*-нитрофенилфосфата (субстрат). Если определяют активность кислой или щелочной фосфатазы почвы, то раствор субстрата готовят на этаноламин-ацетатном буфере (при определении щелочной фосфатазы – рН 8,0, кислой фосфатазы – рН 5,4).

Параллельно следует заложить два контроля: первый (K_1) – в почву вместо субстрата (нитрофенилфосфат) добавить 3 мл воды и остальные реактивы, второй (K_2) – в колбу поместить все исходные реактивы без почвы. Одновременно заложить навеску почвы для определения влажности и расчета K_r (стр. 22).

Содержимое колб перемешать, закрыть корковой или резиновой (неплотно) пробкой и поставить на 30 минут в термостат при +30°C. За время инкубации колбы осторожно встряхнуть 2 раза. После инкубации в колбы прилить по 22 мл дистиллированной воды, взболтать и профильтровать в мерную колбу на 50 мл. К полученному фильтрату прилить 5 мл 1 *n* раствора NaOH, перемешать и дистиллированной водой довести раствор до метки. Полученный ярко-желтый раствор колориметрировать при $\lambda = 440$ нм в кюветах на 10 мм относительно окрашенного первого контрольного образца (K_1), заложенного с почвой без субстрата.

Построение калибровочного графика

Навеску 0,01 г химически чистого п-нитрофенола растворить в 100 мл дистиллированной воды. В 1 мл полученного рабочего раствора будет содержаться 0,1 мг п-нитрофенола (что соответствует 0,223 мг P₂O₅). Затем взять 6 мерных колб на 50 мл, в соответствии с таблицей 5.2 в каждую прилить определенный объем рабочего раствора, добавить 5 мл 1н NaOH, перемешать и довести раствор до метки дистиллированной водой.

Провести колориметрирование калибровочных растворов относительно холостого раствора (в колбу на 50 мл прилить 20 мл дистиллированной воды, 5 мл 1н NaOH, перемешать и довести до метки дистиллированной водой). По полученным данным построить калибровочный график.

Таблица 5.2

Исходные данные для построения калибровочного графика

№ раствора сравнения	Объем рабочего раствора п-нитрофенола, мл	Содержание в растворе сравнения, мг/50 мл	
		п-нитрофенола	P ₂ O ₅
1	0,1	0,01	0,022
2	1,0	0,1	0,223
3	5,0	0,5	1,115
4	10,0	1,0	2,230
5	15,0	1,5	3,345
6	20,0	2,0	4,460

Расчет результатов анализа

Полученное по графику содержание P₂O₅ (мг/50 мл) пересчитывают в активность фосфатаз (фосфатазную активность) по следующей формуле:

$$X = (A_1 - A_k) \times K_r / m, \quad (18)$$

где X – активность фосфатазы, мг P₂O₅/1 г абс.-сух. почвы за 30 мин.;

A₁ и A_к – соответственно количество P₂O₅ опытного и второго контрольного (K₂) образца почвы, найденные по калибровочному графику, мг/50 мл;
 K_г – поправка на влажность почвы;
 m – навеска почвы, г.

ФОРМА ЗАПИСИ

Образец почвы	Навеска почвы, г	K_r	Отсчет по прибору	Количество P_2O_5 , найденное по графику, мг/50 мл	Активность фосфатазы (ФА), мг P_2O_5 на 1 г почвы за 30 мин.	Оценка активности
Опытный				A_1		
Контроль	—	—		A_k		

Реактивы

- 1) **раствор *n*-нитрофенилфосфата натрия 0,5%:** 0,5 г порошка натриевой соли *n*-нитрофенилфосфата растворить в 99,5 мл дистиллированной воды. Для определения кислой или щелочной фосфатазы навеску растворить в 99,5 мл этаноламин-ацетатного буфера с известным значением рН;
- 2) **этанолламин-ацетатный буфер:** раствор А – 12,2 мл моноэтаноламина растворить в колбе на 1 л и довести дистиллированной водой до метки. Раствор Б – 6 мл конц. уксусной кислоты (пл. 1,05) растворить в колбе на 1 л и довести дистиллированной водой до метки;
Буфер с рН 5,4: 25 мл раствора А и 70 мл раствора Б смешать в мерной колбе на 100 мл и довести до метки;
Буфер с рН 8,0: 25 мл раствора А и 50 мл раствора Б смешать в мерной колбе на 100 мл и довести до метки;
- 3) **раствор КОН 1n:** 56 г гидроксида калия растворить в небольшом объеме дистиллированной воды в колбе на 1 л, после чего довести раствор до метки;
- 4) ***n*-нитрофенол, х.ч.;**

5.2.1.6. Определение нитрифицирующей активности почв

Практически весь азот почвы содержится в виде органических соединений: гумусовые вещества, микроорганизмы, растения, детрит. Доля минерального азота редко превышает 3% от общего его содержания в почве.

В ходе биологических процессов происходит постепенный переход органического азота в его различные минеральные формы: аммонийный азот (как результат процесса аммонификации), нитратный азот (результат процесса нитрификации), газообразные соединения азота (как следствие денитрификации). Поскольку *нитрификация является звеном в цепи реакций превращения азотсодержащих соединений, ее интенсивность может использоваться как интегральный показатель, характеризующий биологическую*

активность почв – напряженность микробиологических процессов почвенно-биотического комплекса.

Высокая активность нитрификации характерна для верхних горизонтов почв, обладающих значительным уровнем плодородия. Однако она снижается в результате ряда процессов, являющихся следствием антропогенной деятельности: уплотнения почв, ухудшения водного режима, разрушения почвенной структуры. Все это является следствием несоблюдения требуемых стандартов систем земледелия, потери гумуса, закисления и засоления почв и ряда других факторов. Отрицательное влияние на процесс нитрификации оказывает загрязнение почв органическими поллютантами и тяжелыми металлами.

Однако следует учитывать, что при вовлечении в сельскохозяйственное использование новых земель, находящихся под естественной растительностью, происходит быстрая минерализация гумуса, сопровождающаяся высокой скоростью нитрификации. В данном случае этот показатель не может рассматриваться как показатель благополучия почвенной экосистемы. Таким образом, данный показатель пригоден для оценки более или менее стабильных природных или искусственных экосистем со сложившейся системой взаимодействий с внешними факторами.

Принцип метода

Для определения нитрифицирующей способности почву на определенный срок помещают в благоприятные для процесса нитрификации условия температуры (28°C), влажности (60% капиллярной влагоемкости) и свободного доступа кислорода. *Интенсивность нитрификации определяется по разнице в содержании нитратов в почве до и после инкубации и выражается в мг $\text{NO}_3^-/\text{кг}$ почвы за 14 суток.*

Для оценки потенциально возможного уровня нитрификации может вводиться следующая схема исследований:

- 1) почва, увлажненная водой;
- 2) почва, увлажненная водой + $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$;
- 3) почва, увлажненная водой + $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ + CaCO_3 .

Полная схема обычно используется при проведении экологических исследований, например, для определения влияния загрязняющих веществ на

протекание биологических процессов в почве. Создаются такие условия (благоприятная температура, уровень увлажнения, оптимальная реакция среды, достаточное количества субстрата для переработки), при которых единственным фактором, сдерживающим протекание микробиологических процессов, будет загрязнение почвы (или другой изучаемый негативный фактор). *При оценке питательного режима почвы ограничиваются первым вариантом данной схемы.*

Ход анализа

На технических весах взять три навески по 100 г воздушно-сухой почвы. Одну навеску перенести в колбу емкостью 250-300 мл. Вторую поместить в фарфоровую чашку, прибавить 0,14 г $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, тщательно перемешать шпателем и перенести во вторую колбу; третью навеску почвы также поместить в фарфоровую чашку, добавить 0,14 г $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ и 0,5 г CaCO_3 , тщательно перемешать и перенести в третью колбу. Почву в колбах увлажнить дистиллированной водой из расчета 60%-ной капиллярной влагоемкости, после чего колбы взвесить, прикрыть листом фильтровальной бумаги и выдерживать 14 дней в термостате при температуре 26-28⁰С. В течение этого срока следует регулярно определять общий вес колб (взвешиванием на технических весах). При уменьшении массы в результате испарения воды в почву добавлять по каплям воду до восстановления первоначального веса.

Одновременно заложить навеску почвы для определения влажности и расчета K_r (стр. 22).

После окончания срока инкубации определяется содержание в почве нитратного азота методом фотоэлектроколориметрии с дисульфифеноловой кислотой (стр. 23). Тот же анализ проводится перед закладкой опыта с целью определения первоначального содержания нитратов в почве. Полученные результаты следует умножить на коэффициент гигроскопичности для пересчета на абсолютно-сухую почву.

За нитрифицирующую активность почвы (**НА**) принимают разницу между содержанием нитратов в почве до компостирования и после компостирования. Оценку нитрифицирующей активности проводят в соответствии с таблицей 5.4.

ФОРМА ЗАПИСИ

Вариант	Содержание NO_3^- в почве, мг/кг	Нитрифицирующая активность почвы (НА), мг/кг/14 сут	Оценка активности
До анализа Почва Почва+ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ Почва+ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4+\text{CaCO}_3$		-	-

Реактивы

- 3) $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, сухой реактив;
- 4) CaCO_3 , сухой реактив;
- 5) *дисульфифеноловая кислота*: 3 г чистого фенола смешать с 37 г (20,1 мл) конц. H_2SO_4 и нагревать в течение 6 ч на кипящей водяной бане, закрыв колбу пробкой с длинной трубкой (обратным холодильником). Приготовленную дисульфифеноловую кислоту перелить в темную склянку с притертой пробкой и хранить в темном месте.

5.2.2. Дыхание почвы

В результате биологических процессов в почве происходит поглощение кислорода и выделение углекислого газа. Интенсивность выделения последнего зависит от продуцирования CO_2 почвой, ее физических и химических свойств, гидротермических условий.

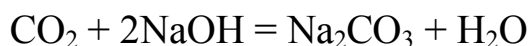
Решающая роль в продуцировании углекислого газа принадлежит биологическим факторам, поэтому объемы выделяющегося с поверхности почвы CO_2 могут характеризовать интенсивность протекающих в ней биохимических процессов и служить интегральным показателем ее экологического состояния.

5.2.2.1. Определение интенсивности выделения CO_2 из почвы (метод А.Ш. Галстяна)

Принцип метода

Метод основан на определении интенсивности дыхания почвы (*ИД*) по учету количественных изменений содержания углекислого газа в определенном замкнутом пространстве с помощью широкогорлых конических колб.

Углекислый газ, выделившийся при дыхании, улавливается избытком раствора щелочи в ходе реакции:



Остаток щелочи оттитровывается кислотой. Получившееся значение позволяет судить о количестве вступившего в реакцию со щелочью диоксида углерода.

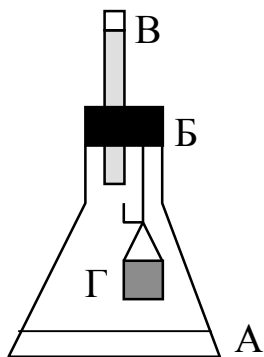


Рис. 4. Схема прибора

Установка состоит из колбы объемом 250 мл (*А*), пробки (*Б*) и мешочка или металлической корзинки с почвой (*Г*). При инкубации пробы в закрытой колбе в результате биологических процессов происходит снижение концентрации кислорода и нарушается газообмен. Для устранения этого недостатка колба, где происходит дыхание почвы, может соединяться с наружным воздухом при помощи трубки с натронной известью (*В*).

Ход анализа

10 г свежей почвы в марлевом мешочке подвесить за крючок в пробке (при анализе влажной почвы используется металлическая корзинка). В колбу налить 25 мл 0,1н NaOH. Колбу закрыть пробкой с мешочком и поставить в термостат при температуре 28-30°C на 24 часа. Одновременно с опытной колбой поставить контрольную с тем же раствором щелочи, но без почвы, для учета CO₂ воздуха в колбе. Колбы периодически встряхивать. После инкубации в колбы добавить по 2-3 капли фенолфталеина и титровать 0,1н HCl до исчезновения розовой окраски.

Параллельно с анализом провести определение влажности почвы и рассчитать коэффициент гигроскопичности (стр. 22), который учитывается при расчете конечного результата.

Расчет результатов анализа

Количество CO_2 , выделившееся из навески почвы за 24 часа, по величине которого оценивается интенсивность дыхания в лабораторных условиях, рассчитывается по формуле:

$$X = [(25 \times K_{\text{NaOH}} - V_{\text{оп.}} \times K_{\text{HCl}}) - (25 \times K_{\text{NaOH}} - V_{\text{контр.}} \times K_{\text{HCl}})] \times 0,1 \times 7 \times K_{\text{г}}, \quad (19)$$

где X – интенсивность дыхания в лабораторных условиях (**ИД**),

мг $\text{CO}_2/10$ г почвы/24 часа;

$V_{\text{оп.}}$ – объем HCl , пошедший на титрование опытного образца, мл;

$V_{\text{контр.}}$ – объем HCl , пошедший на титрование контрольного образца, мл;

K_{NaOH} – поправка к титру щелочи;

K_{HCl} – поправка к титру кислоты;

25 – объем щелочи, взятый для анализа, мл;

7 – количество CO_2 , нейтрализующее 1мл 1н NaOH , мг;

0,1 – нормальность щелочи и кислоты;

$K_{\text{г}}$ – коэффициент пересчета на влажность.

Оценка интенсивности дыхания проводится с помощью данных таблицы 5.3.

ФОРМА ЗАПИСИ

Образец	Навеска почвы, г	Влажность почвы, %	Объем 0,1н NaOH , мл	Объем 0,1н HCl , мл	ИД, мг $\text{CO}_2/10\text{г}$ /24ч	Оценка интенсивности дыхания
Опытный						
Контроль	-	-				

Реактивы

- 1) *раствор NaOH 0,1н;*
- 2) *раствор HCl 0,1н;*
- 3) *фенолфталеин.*

5.2.2.2. Определение интенсивности выделения CO_2 из почвы (метод Л.О. Карпачевского)

Этот метод позволяет определить количество углекислого газа, выделяющегося из почвы, непосредственно в поле. Он имеет некоторое преиму-

щество перед методом А.Ш. Галстяна, так как позволяет работать с ненарушенной почвой в естественных условиях. Однако полученное при этом значение может характеризовать дыхание не столько почвы, сколько целого комплекса компонентов экосистемы, взаимодействующих на границе «почва-атмосфера».

Таким образом, при выборе метода анализа необходимо исходить из целей и задач исследования. Первый метод (метод А.Ш. Галстяна) может использоваться при работе с небольшими объектами (отдельный почвенный образец), второй (метод Л.О. Карпачевского) применим при изучении экосистемы в целом.

Принцип метода

Метод основан на улавливании выделяющегося на границе «почва-атмосфера» углекислого газа раствором щелочи, помещенным в стеклянный стаканчик на уровне почвы. По истечении определенного срока методом кислотно-щелочного титрования определяется количество щелочи, непрореагировавшей с CO_2 , а затем количество CO_2 , вступившее в реакцию со щелочным раствором за время опыта. Полученная величина характеризует интенсивность дыхания.

Ход анализа

Взять два стеклянных стаканчика с крышками объемом 50 мл и диаметром около 4-6 см и точно измерить диаметр микрометром для последующего расчета площади поверхности жидкости. В каждый стаканчик прилить пипеткой 2 мл 0,1н раствора NaOH, закрыть крышкой. Поставить один стаканчик на поверхность почвы опытного участка и открыть. Секундометром отметить время начала опыта. Через 20 минут стаканчик закрыть, перенести в лабораторию, к раствору в стаканчике добавить 2-3 капли фенолфталеина и титровать из микробюретки 0,1н раствором HCl.

Параллельно провести титрование контрольного образца (второй стаканчик, не выставившейся на поверхность почвы).

Расчет результатов анализа

Расчет массы углекислого газа (в кг/га/ч) производят по формуле:

$$X = [(V_{\text{контр.}} - V_{\text{оп.}}) \times N \times 0,000022 \times 10^8 \times 60] / (S \times 20), \quad (20)$$

где X – интенсивность дыхания в полевых условиях (**ИДП**), кг $\text{CO}_2/\text{га}/\text{час}$;
 $V_{\text{контр.}}$ – объем HCl , пошедший на титрование контроля, мл;
 $V_{\text{оп.}}$ – объем HCl , пошедший на титрование опытного образца, мл;
 N – нормальность кислоты;
 S – площадь поглотителя, см^2 ;
 10^8 – коэффициент для перевода см^2 в га;
 60 – количество минут в 1 ч;
 20 – время опыта, мин.;
 $0,000022$ – количество CO_2 , эквивалентное 1 мл 1н кислоты, кг.

ФОРМА ЗАПИСИ

Образец	Площадь поглотителя, см^3	Объем HCl , пошедший на титрование образца, мл	ИДП , кг $\text{CO}_2/\text{га}/\text{ч}$
Опытный			
Контроль			

Реактивы:

- 1) *раствор NaOH 0,1 н;*
- 2) *раствор HCl 0,1 н;*
- 3) *фенолфталеин.*

5.3. Оценка биологической активности почв

Оценка биологической активности почв может производиться с помощью балльной шкалы. Согласно этому методу выделяется пять градаций биологической активности: 1) очень слабая; 2) слабая; 3) средняя; 4) высокая; 5) очень высокая. Каждой градации соответствует определенный диапазон значений по показателю биологической активности. Полученные в эксперименте данные сравниваются со справочными данными таблиц 5.3 и 5.4, на основании чего производится оценка изучаемого образца.

Таблица 5.3

Шкала сравнительной оценки биологической активности почвы (Гапонюк, Малахов, 1985)

Показатель	Активность				
	I оч. слабая	II слабая	III средняя	IV высокая	V оч. высокая
Каталаза (КА), $\text{O}_2 \text{ см}^3/\text{г}/\text{мин}$	< 1,0	1,0-3,0	3,1-10,0	10,1-30,0	> 30

Инвертаза (ИА), мг глюкозы/г/сут	< 5,0	5,0-15,0	15,1-50,0	50,1-150,0	> 150
Фосфатаза (ФА), мг P ₂ O ₅ /10г/ч	0-0,5	0,6-1,5	1,6-5,0	5,1-15,0	> 15
Выделение CO ₂ (ИД), мгO ₂ /10г/сут	0-5,0	5,1 -10,0	10,1-15,0	15,1-25,0	> 25
Уреаза, мг N-NH ₃ /10г/сут	< 3,0	3,0-10,0	10,1-30,0	30,1-100,0	> 100
Протеаза, мг альбум./10г/ч	0-0,5	0,6-1,0	1,1-2,0	2,1-3,0	> 3,0
Дегидрогеназа, мкл H ₂ /г/сут	0-3,0	3,1-7,0	7,1-15,0	15,1-22,0	> 22

Таблица 5.4

Оценка нитрифицирующей активности почвы

№ группы	Нитрифицирующая активность, NO ₃ мг/кг почвы	Оценка
1	менее 5,0	очень низкая
2	5,1 – 8,0	низкая
3	8,1 – 15,0	средняя
4	15,1 – 30,0	повышенная
5	30,1 – 60,0	высокая
6	более 60	очень высокая

Необходимо, однако, отметить, что при использовании указанных шкал очень сложно количественно выделить влияние последствий человеческой деятельности на экологическое состояние почвы. Учитывая, что антропогенное воздействие на почвенный покров приводит к отклонению значения показателей биологической активности от естественного уровня, характерного для данной почвы, среди важнейших критериев такой оценки следует назвать сравнение биологической активности почв, затронутых антропогенным воздействием, с почвой фоновых территорий. Кроме этого, в практике экологических исследований используют дополнительный показатель, позволяющий оценить воздействие загрязняющих веществ на биологическую активность почв в целом – период восстановления ее фактического значения до естественного для изучаемой почвы.

Сравнивая фактически полученный показатель периода восстановления биологической активности почвы со среднестатистическими данными на этот счет (табл. 5.5), делают окончательное заключение о характере влияния загрязнителей и степени экологического неблагополучия изучаемой территории.

Таблица 5.5

Оценка воздействия загрязняющих веществ на биологическую активность (Гапонюк, Малахов, 1985)

Период восстановления контрольного параметра, дни		Оценка последствий
лаб.условия	полевые условия	
< 15	< 30	не оказывает влияния незначительное влияние, но возможны отрицательные последствия существенное влияние, возможны серьезные экологические последствия
15-30	31-60	
> 30	> 60	

Однако данный способ требует значительных затрат времени и довольно трудоемок.

*Вопросы для контроля
и самопроверки*

1. Назовите методы, с помощью которых можно охарактеризовать биологическую активность почв.
2. Обоснуйте значение определения показателей биологической активности почв в почвенно-экологическом мониторинге.
3. Какие методы относят к группе микробиологических и биохимических?
4. Что представляют собой аппликационные методы оценки биологической активности почв?
5. Назовите классы ферментов по типу катализируемых реакций.
6. Каковы общие принципы определения активности ферментов в почве?
7. Какие показатели используются при оценке биологической активности почв?

6. ОПРЕДЕЛЕНИЕ КАЧЕСТВА ВОДЫ ПРИРОДНЫХ ВОДОЕМОВ

С экологической точки зрения значение воды двойко: она является средой обитания для водных организмов и играет решающую роль в функционировании наземных биоценозов. Вода входит в состав клеток животных и растительных организмов, достигая 80 % и более от суммарного состава вещества цитоплазмы.

Запасы воды на Земле ограничены. Общее ее количество достигает 1,38 млрд. км³, но из этого количества доля пресной воды составляет около 35 млн. км³. На каждого жителя планеты приходится менее 6 млн. м³ пресной воды, но до 70 % ее запасов находится в ледниках и практически недоступны. Та часть воды, которая используется человеком, подвергается мощному загрязнению, что резко снижает ее качество и порождает дефицит.

В естественных условиях химический состав вод регулируется природными процессами. Хозяйственная деятельность человека влияет на природные процессы и сильно изменяет состав природных вод. Вода загрязняется огромным количеством сточных вод, содержащих отходы промышлен-

ного и сельскохозяйственного производства, коммунально-бытовыми стоками. Они уменьшают в природных водах содержание растворенного кислорода, изменяют условия разложения органических веществ, увеличивают концентрации азота, фосфора, металлов, ядохимикатов и других вредных веществ. Все это ведет к ухудшению качества воды.

Качество воды – это характеристика состава и свойств, определяющая ее пригодность для использования.

Водотоки и водоемы считаются загрязненными, если состав вод изменен до такой степени, что они становятся непригодными для целей, которым служили до использования человеком.

Загрязнение поверхностных природных вод – это процесс изменения физических, химических или биологических свойств природных вод при попадании в них различных веществ, которые могут оказать вредное воздействие на человека и экосистемы, ограничить возможности использования воды.

Качество воды оценивается комплексом показателей, большинство из которых применяется для оценки воды любого происхождения и значения (табл. 6.1).

Таблица 6.1

Состав и свойства воды поверхностных источников хозяйственно-питьевого водоснабжения

Показатели	Требования и нормативы
Плавающие примеси	На поверхности водоема не должно быть плавающих пленок, пятен минеральных масел и скоплений других примесей
Запах, вкус	Вода не должна иметь запаха и вкуса интенсивностью более двух баллов
Окраска	Не должна обнаруживаться в столбике 20 см
Значение pH	Не должно выходить за пределы 6,5-8,5 ед.
Минеральный состав	Не должен превышать по сухому остатку 1000 мг/л, в том числе хлоридов – 350 мг/л, сульфатов – 500 мг/л
Растворенный O ₂	Не менее 4 мг/л в любой период года
БПК (биохимическое потребление кислорода)	При 20 °С не должно превышать 3 мг/л
ХПК (химическое потребление кислорода)	Для водоемов хозяйственно-питьевого водопользования не более 15 мг/л, культурно-бытового – 30 мг/л
Бактериальный состав	Вода не должна содержать возбудителей кишечных заболеваний; коли-индекс не более 10 000 на 1 л
Токсичные химические вещества	Не должны содержаться в воде в концентрациях, превышающих нормативы, установленные Минздравом

При определении качества воды в первую очередь анализируются наиболее изменчивые при хранении образцов показатели: температура, цветность, вкус, запах, мутность и т.д. Эти анализы производятся непосредственно при отборе проб. Также в день отбора проб производится определение растворенного кислорода, БПК, ХПК, кислотность.

При необходимости далее определяется элементный состав воды: содержание в ней аммония, нитратов, нитритов, хлоридов, фосфатов, фторидов, бромидов, сероводорода, цианидов, тяжелых металлов, а также органических веществ: ацетона, бензола, бенз(а)пирена, нефтепродуктов, фенола, формальдегида и др.

*Перечень необходимых для усвоения студентами
знаний и умений*

После изучения темы студент должен знать:

- значение воды и ее свойств для человека и окружающей среды;
- основные параметры и нормативы экологического состояния природных вод как среды обитания и природного ресурса;
- механизм действия нитратов, фосфатов и хлоридов как экотоксикантов в водных системах;
- влияние использования минеральных удобрений на состояние водных экосистем;
- значение анализов, методику отбора и подготовки проб воды;
- принципы методов, использующихся при анализе воды.

Студент должен уметь:

- определить запах, кислотность воды, содержание взвешенных веществ и сухого остатка;
- дать экологическую характеристику гидрологической составляющей экосистемы, основываясь на результатах учета содержания и потребления кислорода в природных водах;
- определить элементный состав воды: содержание нитратов, ортофосфатов и хлоридов;

- оценить состояние природных вод, используя существующие санитарно-гигиенические нормативы.

6.1. Отбор проб воды

Отбор проб воды производится в соответствии с **ГОСТ Р 51592-2000 Вода. Общие требования к отбору проб**. Данный документ распространяется на любые типы вод и устанавливает общие требования к отбору, транспортированию и подготовке к хранению проб воды, предназначенных для определения показателей ее состава и свойств.

В зависимости от цели и объекта исследования разрабатывают программу исследований, в которой устанавливают место и периодичность отбора проб.

Различают точечные и составные пробы:

- **точечная проба** – это проба, отобранная за один прием. Анализ точечных проб проводят, когда поток воды не однороден, а значения определяемых показателей не постоянны (например, для речных вод). Точечные пробы предпочтительнее, если цель программы отбора проб – оценить качество воды по отношению к нормативам содержания (ПДК) показателей в воде, а также при определении неустойчивых показателей (концентрация растворенных газов, остаточного хлора, растворимых сульфидов и др.);
- **составная проба** – это проба, состоящая из нескольких точечных проб. Составные пробы применяют в случаях, когда требуются усредненные данные о составе воды.

Отбор точечных проб осуществляют с помощью батометра – гидрологического прибора для взятия проб воды с различных глубин водоёма. Батометр представляет собой специально приспособленный сосуд, обычно цилиндрической формы, с клапанами или кранами для закрывания под водой на заданной глубине. Основное назначение любого батометра – взятие пробы в заданном горизонте и предохранение её в дальнейшем от смешивания с водой других горизонтов при подъёме прибора на поверхность.

Допускается отбор проб воды бутылкой. Бутылку закрывают пробкой, к которой прикреплен шнур, и вставляют в тяжелую оправу или к ней подвешивают груз на тросе (шнуре, веревке). Бутылку опускают в воду на заранее

выбранную глубину, затем пробку вынимают при помощи шнура, бутылка заполняется водой до верха, после чего вынимается. Перед закрытием бутылки пробкой слой воды сливается так, чтобы под пробкой оставался небольшой слой воздуха.

Емкость, с помощью которой осуществляется отбор, транспортировка и хранение проб воды должны:

- предохранять состав пробы от потерь определяемых показателей или от загрязнения другими веществами;
- быть устойчивыми к экстремальным температурам и разрушению;
- иметь необходимые размеры, форму, массу, пригодность к повторному использованию, а также способность легко и плотно закрываться;
- характеризоваться химической (биологической) инертностью материала, использованного для изготовления емкости и ее пробки (например, емкости из боросиликатного или известково-натриевого стекла могут увеличить содержание в пробе кремния или натрия).

Большинство показателей состава и свойств воды рекомендуется определять в течение 24 часов после отбора пробы. При необходимости более длительного хранения образца применяют специальные приемы – охлаждение (до 2-5⁰С), замораживание (до -20⁰С) или консервацию (с помощью кислотных и щелочных растворов, органических растворителей и др. реактивов).

6.2. Определение запаха и вкуса воды

Запах воды вызывают летучие, пахнущие вещества, поступающие в нее в результате процессов жизнедеятельности водных организмов, при биохимическом разложении органических веществ в анаэробных условиях, при химическом взаимодействии компонентов, содержащихся в водоеме, а также со сточными водами предприятий химической, металлургической, пищевой и других отраслей промышленности. Вид, интенсивность и устойчивость запаха могут быть различны и зависят от ряда факторов, таких как природа пахнущих веществ, гидрологические условия, температура и т.д.

По характеру запаха делятся на запахи естественного и искусственного происхождения. *Запахи естественного происхождения* возникают от живущих или отмерших в воде организмов, от влияния почв и т.д. Такие запахи могут быть *ароматическими, болотными, гнилостными, плесневыми, рыбными, сероводородными* и др. Запахи искусственного происхождения являются следствием загрязнения окружающей среды промышленными выбросами, и их называют по соответствующим веществам: хлорный, хлорфенольный, нефтяной, камфорный и т.п.

Вкус воды также определяется примесями различной природы. *Различают четыре вида вкусов: соленый, горький, сладкий, кислый.* Качественную характеристику оттенков вкусовых ощущений – привкуса – выражают описательно: хлорный, рыбный, горьковатый и так далее.

Наиболее распространенный соленый вкус воды чаще всего обусловлен растворенным в воде хлоридом натрия, горький – сульфатом магния, кислый – избытком свободного диоксида углерода и т.д.

По силе воздействия на органы вкуса ионы некоторых металлов выстраиваются в следующие ряды: катионы: $\text{NH}_4^+ > \text{Na}^+ > \text{K}^+$; $\text{Fe}^{2+} > \text{Mn}^{2+} > \text{Mg}^{2+} > \text{Ca}^{2+}$; анионы: $\text{OH}^- > \text{NO}_3^- > \text{Cl}^- > \text{HCO}_3^- > \text{SO}_4^{2-}$.

Ход анализа

Обычно запах воды определяется с помощью экспертной оценки.

Поместить пробу воды в химический стакан на 150 мл и определить запах.

Для установления интенсивности запаха обычно используют систему баллов, представленную в таблице 6.2.

Таблица 6.2

Определение интенсивности запаха воды

Балл	Характеристика	Проявление запаха
0	Никакого запаха	Отсутствие ощутимого запаха
1	Очень слабый	Не замечается потребителем, но обнаруживается специалистом
2	Слабый	Обнаруживается потребителем, если на него обратить внимание
3	Заметный	Запах легко обнаруживается и может быть причиной того, что вода неприятна для питья
4	Отчетливый	Может заставить воздержаться от питья
5	Очень сильный	Делает воду непригодной для питья

Запах воды водоемов не должен превышать двух баллов.

Определение вкуса воды производится аналогичным образом при помощи такой же шкалы, как и для определения запаха воды.

6.3. Определение pH воды потенциометрическим методом

Значение pH в природных водах обычно колеблется в пределах 6,5-8,5, атмосферных осадков – 4,6-6,1, в болотах – 5,5-6,0, в океане – 7,9-8,3. Значение pH вод шах и рудников может иногда достигать единицы, а содовых

озер и термальных источников – 10,0. Происходящие в воде химические и биологические процессы приводят к заметным изменениям кислотности или щелочности воды.

Кислотность воды – один из важнейших показателей ее качества, существенно влияющий на развитие и жизнедеятельность водных растений и животных организмов, процессы миграции химических элементов, агрессивность воды по отношению к металлу и бетону.

Для определения рН воды используется потенциометрический метод.

Принцип метода

Метод основан на измерении электродвижущей силы (ЭДС) элемента, составленного из двух электродов: стандартного (каломельного или хлор-серебряного с известным потенциалом) и стеклянного, погруженных в исследуемую воду. Потенциал стеклянного электрода зависит от активности ионов H^+ в растворе. Изменение рН на единицу вызывает изменение потенциала электрода на 58,1 мВ при 20°C.

Ход анализа

Проводят калибровку прибора (ионметра) по 2-3 буферным растворам с известным значением рН. После этого в химический стакан емкостью на 50 мл помещают необходимое количество анализируемой воды и проводят определение рН.

6.4. Определение содержания взвешенных веществ, общих примесей и сухого остатка

Все содержащиеся в воде вещества можно разделить на взвешенные и растворенные.

Взвешенные вещества – это вещества, которые остаются на фильтре при фильтровании. Общепринятым является отнесение к ним частиц минерального и органического происхождения, остающихся на фильтре с диаметром пор 0,45 мкм. Взвешенные примеси, присутствующие в природных водах, состоят из частиц глины, песка, ила, суспензии органических и неорганических веществ, планктона и различных микроорганизмов. Взвешенные частицы влияют на прозрачность воды. К растворенным относятся вещества, не задерживающиеся на фильтре при фильтровании пробы.

Сумму растворенных веществ называют также сухим остатком. Их можно определить выпариванием профильтрованной пробы, высушиванием остатка при 105 °С до постоянной массы и взвешиванием. Количество органических веществ в сухом остатке составляет не более 10%, поэтому принято считать, что этот показатель характеризует общую минерализацию воды. Воду с содержанием растворенных солей до 1 г/л называют пресной.

Общее содержание примесей – сумма всех растворенных и взвешенных веществ, которые определяют выпариванием нефильтрованной пробы воды, высушиванием полученного остатка при 105 °С до постоянной массы и взвешиванием.

6.4.1. Определение концентрации взвешенных веществ

Принцип метода

Гравиметрический метод определения концентрации взвешенных веществ основан на фильтровании пробы воды через фильтр с диаметром пор 0,45 мкм и взвешивании полученного осадка после высушивания его до постоянной массы.

Ход анализа

Фильтр "синяя лента" поместить в воронку и промыть 100-150 мл дистиллированной воды. Затем пинцетом вынуть фильтр из воронки, поместить в сложенном виде в стеклянный бюкс и высушить в сушильном шкафу при 105 °С в течение часа. Охладить бюкс с фильтром в эксикаторе и, закрыв его крышкой, взвесить на аналитических весах. Повторять процедуру сушки до тех пор, пока разница между взвешиваниями будет не более 0,5 мг.

После этого высушенный фильтр поместить в воронку, смочить небольшим количеством дистиллированной воды для хорошего прилипания и профильтровать через него отмеренный объем тщательно перемешанной анализируемой воды. Последний зависит от предполагаемого количества взвешенных веществ: масса осадка на фильтре должна быть не менее 2 мг и не более 200 мг (воды должно быть примерно 200-300 мл).

По окончании фильтрования дать воде полностью стечь, затем фильтр с осадком трижды промыть дистиллированной водой порциями не более 10 мл, осторожно вынуть пинцетом и поместить в тот же бюкс, в котором

его взвешивали до фильтрования. Фильтр высушить (2 ч при 105 °С), охладить в эксикаторе и, закрыв бюкс крышкой, взвесить. Повторять процедуру сушки, пока разница между взвешиваниями будет не более 0,5 мг.

Расчет результатов анализа

Концентрацию взвешенных веществ в воде рассчитывают по формуле

$$X = (m_1 - m_2) \times 1000 / V, \quad (21)$$

где X – концентрация взвешенных веществ, мг/л;

m_1 – масса бюкса с фильтром и осадком взвешенных веществ, г;

m_2 – масса бюкса с фильтром без осадка, г;

V – объем профильтрованной пробы воды, л.

ФОРМА ЗАПИСИ

№ образца	Масса бюкса с фильтром и осадком, г	Масса бюкса с фильтром без осадка, г	Объем воды, взятой для фильтрования, л	Содержание взвешенных веществ, мг/л

6.4.2. Определение содержания общих примесей и сухого остатка

Принцип метода

Гравиметрический метод определения суммарной концентрации растворенных и взвешенных веществ (общего содержания примесей) основан на выпаривании известного объема нефильтрованной анализируемой воды на водяной бане, высушивании остатка при 105 °С до постоянной массы и взвешивании.

Концентрация растворенных веществ (сухой остаток) определяется расчетным методом.

Ход анализа

Фарфоровый тигель с крышкой промыть 15% раствором соляной кислоты, затем дистиллированной водой, высушить, прокалить при 600°С в течение 2 часов, охладить в эксикаторе и взвесить. Повторять прокаливание до тех пор, пока разница между взвешиваниями будет не более 0,5 мг.

Чашки для упаривания поместить на водяную баню и прилить в них тщательно перемешанный отмеренный объем анализируемой воды, содержащий от 10 до 250 мг примесей. Упарить воду до объема 5-10 см³. Упаренную пробу количественно перенести в тигель, подготовленный указанным выше способом, промывая чашку 2-3 раза дистиллированной водой порциями по 4-5 см³. Упарить пробу в тигле досуха.

После выпаривания дно и стенки тигля (снаружи) для удаления загрязнения обтереть фильтровальной бумагой, смоченной 15% раствором соляной кислоты, и ополоснуть дистиллированной водой.

Тигель перенести в сушильный шкаф, где сушить при 105 °С в течение 2 часов. Затем охладить тигель в эксикаторе, закрыть крышкой и взвесить. Повторять процедуру сушки и взвешивания до тех пор, пока разница между взвешиваниями не будет менее 0,5 мг.

Расчет результатов анализа

Общее содержание примесей рассчитывают по формуле

$$X_1 = (m_1 - m_2) \times 1000 / V, \quad (22)$$

где X_1 – общее содержание примесей, мг/л;

m_1 – масса тигля, г;

m_2 – масса тигля с высушенным остатком, г;

V – объем воды, взятый для упаривания, л.

Сухой остаток рассчитывают по формуле

$$X_2 = X_1 - X, \quad (23)$$

где X_2 – сухой остаток, мг/л;

X_1 – общее содержание примесей, мг/л;

X – концентрация взвешенных веществ, мг/л.

ФОРМА ЗАПИСИ

№ образца	Масса тигля, г	Масса тигля с остатком, г	Объем воды, взятый для упаривания, л	Общее содержание примесей, мг/л	Сухой остаток, мг/л

Реактивы

1) *раствор HCl 15%-ный*: 30 см³ соляной кислоты смешать с 170 см³ дистиллированной воды.

6.5. Определение растворенного кислорода в воде по Винклеру

Содержание растворенного в воде кислорода имеет большое значение при оценке качества воды в водоемах.

Снижение его содержания указывает на:

- резкое изменение биологических процессов в водоеме (снижение фотосинтетической активности зеленых водорослей, вызванное их угнетением в результате увеличения мутности воды, изменения рН воды, присутствием в воде токсичных элементов и соединений и т.п.);
- загрязнение активно окисляющимися веществами (при попадании в воду органических веществ происходит их окисление). Реакция, при которой происходит расход кислорода: органическое вещество + O₂ = CO₂ + H₂O.

Кислород является одним из важнейших экологических факторов, определяющих возможность существования организмов в водной среде. Часто именно он лимитирует развитие жизни в водоеме. Растворенный в воде кислород оказывает большое влияние на физико-химический режим водоемов, их самоочищение, обуславливает жизнедеятельность гидробионтов. Концентрация кислорода в природных водах колеблется от 0 до 14,7 мг/л и зависит от атмосферного давления, содержания растворимых в воде веществ и, особенно, от температуры. При давлении 760 мм рт. ст. и температуре +20°C концентрация O₂ в воде равна 9,02 мг/л. При повышении температуры его растворимость снижается и при 100°C равна 0.

Приспособление отдельных видов животных к снижению концентрации O₂ в воде происходит разными путями. Многие виды впадают в «спячку»; другие снижают свою активность, особенно двигательную; третьи увеличивают количество воды, пропускаемое через жабры т.д. Но в любом случае наблюдается снижение жизнедеятельности водных организмов, что неблагоприятно сказывается на биоценологических связях и отрицательно влияет на рыбный промысел.

У большинства рыб процессы жизнедеятельности протекают нормально при содержании O₂ в воде не ниже 3-4,5 мг/л, у более ценных рыб (лососевые, осетровые, сиговые) – не ниже 6,0-7,0 мг/л. Форель живет в воде с концентрацией O₂ около 8 мг/л.

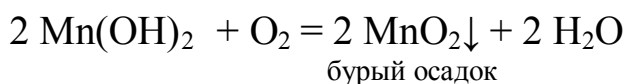
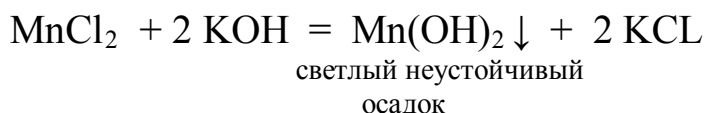
Согласно санитарным требованиям в водоемах во все сезоны года содержание O₂ в воде должно быть не менее 4,0 мг/л.

Принцип метода

Определение кислорода в воде проводится методом йодометрического титрования. В данном случае используется косвенный метод титрования, суть которого заключается в том, что при добавлении к анализируемой пробе раствора $MnCl_2$, в щелочной среде кислород воды расходуется на окисление Mn^{2+} до Mn^{4+} . Причем количество образовавшегося MnO_2 будет эквивалентно количеству кислорода, содержащегося в пробе воды. Для определения же количества MnO_2 , одновременно с $MnCl_2$ к пробе добавляют раствор KJ . В кислой среде Mn^{4+} будет восстанавливаться до Mn^{2+} ($MnSO_4$), окисляя при этом эквивалентное количество J^- . Выделяющийся при этом йод оттитровывают тиосульфатом натрия. Таким образом, по количеству восстановленного йода в растворе судят о количестве пошедшего на реакцию оксида марганца (IV), которое, в свою очередь, свидетельствует о количестве кислорода в анализируемой пробе.

Определение идет в несколько этапов.

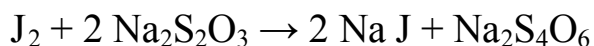
1) Гидроксид марганца (II), образовавшийся при взаимодействии хлорида или сульфата марганца со щелочью, в щелочной среде окисляется до оксида марганца (IV), количественно связывая при этом кислород.



2) В кислой среде оксид марганца (IV) вновь переходит в двухвалентное состояние, окисляя при этом количество йода, эквивалентное связанному кислороду. Выделившийся йод окрашивает раствор в желтый цвет.



3) Выделившийся йод титруют тиосульфатом натрия ($Na_2S_2O_3$), который связывает йод:



Чувствительность метода – 0,05 мг растворенного кислорода на 1 л. Определению мешают органические вещества, нитраты, двух- и трехвалентное железо, хлор. Их влияние в ходе анализа необходимо устранять.

Ход анализа

Взять пробу воды в склянку, чтобы при наполнении вода переливалась через край. Заполненную до краев склянку закрыть притертой пробкой, чтобы под ней не было пузырьков воздуха. Зафиксировать растворенный кислород сразу после отбора пробы. Для этого пипеткой на 1 мл внести в пробу 1 мл $MnCl_2$ и 1 мл щелочного раствора KJ из расчета на 100-150 мл пробы (реактивы помещаются ближе к дну склянки). После внесения реактивов склянку закрыть пробкой и её содержимое тщательно перемешать. В таком состоянии фиксированная проба может оставаться не более суток.

Перед титрованием к пробе прилить 5 мл H_2SO_4 (1:4). При этом часть жидкости может переливаться через край (последнее не влияет на конечный результат анализа). Склянку закрыть пробкой и содержимое тщательно перемешать. Раствор при этом окрасится в желто-коричневый цвет.

Мерным цилиндром отобрать для титрования пробу 100 мл и перенести ее в коническую колбу на 250-300 мл. Провести быстрое титрование 0,02н раствором тиосульфата натрия при непрерывном взбалтывании до слабо-желтого цвета.

После этого добавить 1-2 мл 0,5% раствора крахмала (раствор окрасится в синий цвет) и продолжать титрование до исчезновения синего окрашивания (крахмал прибавляют в конце, чтобы избежать сильной адсорбции йода крахмалом, что препятствует восстановлению йода).

Количество тиосульфата, израсходованное на титрование выделившегося йода, эквивалентно количеству кислорода в растворе.

Расчет результатов анализа

Расчет содержания растворенного в воде кислорода произвести по формуле:

$$X = (V \times N \times 8 \times 1000) / V_0, \quad (24)$$

- где X – содержание O_2 , мг/л;
 V – объем тиосульфата натрия, пошедший на титрование пробы, мл;
 N – концентрация раствора тиосульфата натрия с учетом поправки к титру;
 8 – эквивалентная масса кислорода, соответствующая 1 мл 1н раствора тиосульфата натрия, г;
 1000 – множитель для перевода g в mg ;
 V_0 – объем пробы, взятый для титрования, мл.

ФОРМА ЗАПИСИ

№ образца	Объем $Na_2S_2O_3$, пошедший на титрование, мл	Концентрация р-ра $Na_2S_2O_3$	Объем пробы, взятый для титрования, мл	O_2 , мг/л

Реактивы

- 1) *раствор $MnCl_2$ 42%-ный*: 420 г $MnCl_2$ растворить в 580 мл дистиллированной воды;
- 2) *щелочной раствор KJ* : 150 г KJ и 500 г $NaOH$ растворить в 350 мл дистиллированной воды;
- 3) *раствор H_2SO_4 (1:4)*: к четырем частям дистиллированной воды прилить одну часть H_2SO_4 , размешать стеклянной палочкой и охладить;
- 4) *раствор $Na_2S_2O_3$ х 5 H_2O 0,02н*: 5 г тиосульфата натрия растворить в 995 мл дистиллированной воды;
- 5) *раствор крахмала 0,5%-ный*: 0,5 г крахмала растворить в 99,5 мл дистиллированной воды.

6.6. Определение биохимического поглощения кислорода

При загрязнении водоемов хозяйственно-бытовыми и промышленными сточными водами происходит снижение концентрации растворенного кислорода за счет усиления деятельности водной микрофлоры, разлагающей органическое вещество, попадающее в воду со стоками. Для оценки их влияния на водные местообитания производится экспериментальное определение биологического поглощения кислорода (БПК).

Установлены следующие нормативы БПК: для водоемов хозяйственно-питьевого назначения БПК полное (БПК_{полн.}) – не более 3 мг/л; для водоемов хозяйственно-бытового назначения – не более 6 мг/л.

Принцип метода

Метод основан на определении концентрации растворенного кислорода в воде через определенные промежутки времени (БПК за 3, 5, 7, 10, 20 суток) в анаэробных условиях при температуре 20° С.

Для арбитражного анализа поверхностных и сточных вод обычно определяют биологическое потребление кислорода за 5 суток (БПК₅). Однако за 5 суток окисление органических веществ, содержащихся в воде, по ряду причин происходит не полностью, поэтому параллельно с этим показателем используют показатель биологического потребления кислорода за большее количество времени, необходимое для разложения основной массы органики, поступающей в водоем (БПК_{полн}). При загрязнении водоемов хозяйственно-бытовыми сточными водами с относительно постоянным составом и свойствами, БПК₅ составляет 50% БПК_{полн}. Для водоемов, загрязненных промышленными сточными водами, БПК₅ может составлять от 10 до 90% БПК_{полн}.

Полнота окисления органического вещества зависит от состава стоков, а скорость окисления может зависеть от количества микроорганизмов и их адаптированности к среде.

В целом органические соединения, попадающие в воду со стоками, разделяются на три группы:

- *легкоокисляющиеся* – формальдегид, низшие алифатические спирты, фенол, фурфурол и др. Константы скорости их окисления (К) составляют 1,4-0,30 сут.⁻¹. Полное их окисление может произойти в течение суток;
- *средней устойчивости* – крезолы, нафтолы, ксиленолы, резорцин, пирокатехин, ПАВ и др. Константы скорости их окисления (К) составляют 0,30-0,05 сут.⁻¹. На их полное окисление уходит от 3-х до 20 суток;
- *медленно разрушающиеся* – гидрохинон, сульфенол, неионогенные ПАВ с К = 0,029-0,002 сут.⁻¹. На их окисление может уйти более месяца.

В данной работе определяется БПК₇ (поскольку в учебном процессе это удобно с организационной точки зрения). Результаты определения БПК выражают в мг кислорода на 1 л воды (О₂ мг/л).

Ход анализа

Исследуемую воду поместить в бутылку, наполнив ее на 2/3. Воду аэрировать в течение 1 минуты путем встряхивания. Затем взять склянку меньшего объема, залить ее анализируемой водой до краев, закрыть пробкой и поставить в термостат с температурой 20⁰С. В оставшейся воде сразу зафик-

сировать растворенный кислород и определить его содержание по Винклеру. В склянке из термостата тот же анализ произвести через 7 дней.

Расчет БПК₇ производится по разности между содержанием кислорода в исходной (свежей) пробе, и пробе, поставленной на инкубацию в термостат.

ФОРМА ЗАПИСИ

Проба	Объем Na ₂ S ₂ O ₃ , пошедший на титрование, мл	Нормальность Na ₂ S ₂ O ₃	Объем пробы, взятый для титрования, мл	БПК ₇ , O ₂ , мг/л
До инкубации				
После инкубации				

6.7. Определение химического потребления кислорода

Химическое потребление кислорода (ХПК), или окисляемость – это показатель, характеризующий общее количество содержащихся в воде восстановителей неорганического или органического происхождения, реагирующих с сильными окислителями (например, с бихроматом или перманганатом калия).

С химической точки зрения ХПК – это общая концентрация кислорода, равная количеству окислителя (бихромата), потребленному растворенным и взвешенным веществом при обработке воды данным окислителем в определенных условиях.

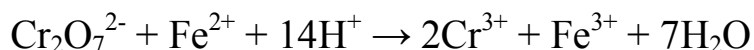
На практике в качестве окислителя в основном используется бихромат калия, так как большинство соединений окисляется при его использовании на 95-100% (за исключением таких органических веществ, как бензол, толуол, пиридин и др.). Однако данный метод не применим к водам со значением ХПК более 300 мг/л, к высокоминерализованным и морским водам.

Результаты определения окисляемости выражают в мг кислорода на 1 л воды (O₂ мг/л).

Принцип метода

В сильноокислой среде бихромат калия действует как сильный окислитель. При анализе используют его избыток. Остаток реактива после окисления титруют раствором соли Мора и по количеству соли Мора, пошед-

шей на титрование, судят о количестве восстановителей в растворе, на окисление которых и был израсходован бихромат.



Анализ аналогичен методу определения содержания органического вещества в почве.

Ход анализа

Взять пипеткой пробу исследуемой воды (для сточной воды – 1 мл, для природных – 20-50 мл) и перенести в коническую колбу емкостью 250-300 мл. Добавить 2 мл 0,1н раствора бихромата калия и осторожно перемешать встряхиванием. Добавить (ОСТОРОЖНО!!!) автоматической пипеткой 7 мл концентрированной H_2SO_4 , осторожно перемешать встряхиванием. При этом температура смеси поднимается до 100°C . Через 2 минуты колбу охладить под струей воды до комнатной температуры.

Добавить (ОСТОРОЖНО!) 100 мл дистиллированной воды, перемешать встряхиванием. После разогревания раствор охладить. Добавить 4-5 капель индикатора (финилантраниловая кислота). Цвет пробы станет коричневым.

Оттитровать избыток бихромата калия 0,1н раствором соли Мора до изменения окраски (при титровании раствор вначале приобретет фиолетовую окраску, а затем изумрудно-зеленую, что является сигналом окончания титрования).

Одновременно провести холостой опыт с 1 мл дистиллированной воды согласно приведенной выше методике.

Расчет результатов анализа

Произвести расчет по формуле:

$$\text{ХПК} = [(V_{\text{контр.}} - V_{\text{оп.}}) \times N \times K \times 8 \times 1000] / V_{\text{общ.}}, \quad (25)$$

где $V_{\text{контр.}}$ – объем раствора соли Мора, израсходованного на титрование холостого опыта, мл;

$V_{\text{оп.}}$ – объем раствора соли Мора, израсходованного на титрование пробы воды, мл;

N – концентрация раствора соли Мора;

K – поправочный коэффициент к титру раствора соли Мора;
 $V_{\text{общ.}}$ – объем анализируемой воды, мл;
 8 – эквивалентная масса кислорода, г/моль.

ФОРМА ЗАПИСИ

№ образца	Объем пробы воды, мл	Расход раствора соли Мора, мл		ХПК, мг/л
		$V_{\text{контр.}}$	$V_{\text{оп.}}$	

Реактивы:

- 1) *раствор бихромата калия 0,1н*: 4,9 г бихромата калия растворяют в 906,1 мл дистиллированной воды;
- 2) *концентрированная H_2SO_4* (уд. вес 1,84);
- 3) *финилантраниловая кислота*: 0,25 г фенилантраниловой кислоты растворяют в 12 мл 0,1н раствора NaOH и доводят объем до 250 мл дистиллированной водой;
- 4) *0,1н раствор соли Мора*: 39,2 г соли Мора растворяют в 960,8 мл дистиллированной воды.

6.8. Анионный состав воды

Значительную долю минеральных соединений, содержащихся в природных водах, составляют анионы азотной, ортофосфорной и соляной кислот. В фоновых концентрациях они не представляют опасности для нормального функционирования водных экосистем и даже являются необходимыми элементами питания водных фотосинтетиков: фитопланктона и бентосной растительности. Так, например, в фоновых районах лесных областей с умеренным климатом содержание нитратов и ортофосфатов в воде находится на уровне 0,3-0,5, а в зонах аридного климата – 1,2-1,7 мг/л.

Однако зачастую концентрации указанных анионов существенно превышают фоновые, что является результатом смыва биогенных элементов с сельскохозяйственных угодий поверхностным стоком и грунтовыми водами, а также сбросов в водоемы неочищенных или недостаточно очищенных коммунально-бытовых и промышленных сточных вод, что приводит к **возникновению ряда экологических проблем:**

- повышению концентрации нитратов в воде, что ограничивает возможность ее использования для питьевых целей. *Согласно гигиени-*

ческим нормативам, предельно допустимая концентрация нитрат-ионов в питьевой воде составляет 45 мг/л (по азоту 10 мг/л);

- увеличению концентрации нитратов и фосфатов в воде, что приводит к развитию процесса эвтрофикации водоема (*признаки эвтрофирования наблюдаются, если содержание нитратов превышает 1,2 мг/л, а ортофосфатов – 15 мг/л*);
- повышению концентрации хлора, что может оказать ингибирующее влияние на состояние водных организмов. Большой вклад хлориды вносят в общую минерализацию вод, делая их непригодными для целей орошения. *Предельно допустимой является концентрация хлоридов в 350 мг/л.*

6.8.1. Определение содержания в воде ортофосфатов

Принцип метода

Определение фосфора в воде основано на способности фосфорной кислоты давать голубое окрашивание в сернокислом растворе молибденовокислого аммония и сурьмяновиннокислого калия при восстановлении аскорбиновой кислотой, причем интенсивность окрашивания пропорциональна содержанию в растворе фосфорной кислоты.

Ход анализа

Пробу воды профильтровать через бумажный фильтр, промытый теплой дистиллированной водой (примерно 200 мл). Первые 10 мл фильтрата удалить, а его остальное количество собрать в чистую сухую колбу емкостью 250 мл. Максимальный объем аликвоты, отбираемой для анализа – 40 мл, минимальный – 5 мл, что зависит от предполагаемого содержания ортофосфатов в воде (табл. 6.3).

Таблица 6.3

Объем воды, используемый для анализа

Содержание ортофосфатов, мг/л	Объем исследуемой порции, мл	Толщина кюветы, мм
0,0-0,2	40	40-50
0,2-0,8	40	10
0,8-1,6	20	10
1,6-3,2	10	10
3,2-6,4	5	10

Пробу воды поместить в мерную колбу емкостью 50 мл (если проба воды была меньше 40 мл, то ее следует довести до этого объема дистиллированной водой). Затем раствор довести до метки реактивом Б и перемешать. Измерение произвести через 10-30 минут на КФК-2 при длине волны 670 нм (чувствительность 3 красная).

Оптическая плотность определяется по отношению к холостому раствору (вместо пробы берется аликвота дистиллированной воды).

Если исходная проба мутная или окрашенная, в пробу следует добавить 3 мл компенсирующего реактива.

Построение калибровочного графика

Для получения основного раствора взять 0,2197 г однозамещенного фосфата калия, растворить в дистиллированной воде и количественно перенести в мерную колбу на 1 л. Затем объем раствора в колбе довести дистиллированной водой примерно до 800 мл, после чего добавить 10 мл 4,5н H_2SO_4 и довести раствор дистиллированной водой до метки.

Для приготовления стандартного раствора пипеткой взять 20 мл основного раствора и поместить в мерную колбу на 500 мл, после чего довести раствор до метки дистиллированной водой.

Пипеткой взять объемы стандартного раствора с концентрацией фосфора 2 мг/л, указанные в таблице 6.4, поместить в мерные колбы емкостью 50 мл, довести дистиллированной водой примерно до 40 мл, после чего прилить те же реактивы, что и в опытной пробе, довести раствор в колбе до метки (дистиллированной водой) и фотометрировать.

Таблица 6.4

Исходные данные для построения калибровочного графика

Номер раствора сравнения	Объем стандартного раствора, мл	Концентрация P_2O_5 в растворе сравнения, мг/50 мл
1	1	0,002
2	2	0,004
3	3	0,006
4	4	0,008
5	5	0,010
6	6	0,012
7	7	0,014

8	8	0,016
9	9	0,018
10	10	0,020

Расчет результатов анализа

Содержание ортофосфатов (P_2O_5) в пробе воды рассчитывают по следующей формуле:

$$X = C \times 1000 / V, \quad (26)$$

где X – содержание P_2O_5 в пробе, мг/л;

C – концентрация P_2O_5 в растворе по калибровочному графику, мг/50 мл;

1000 – коэффициент для перевода в мг/л;

V – объем воды, взятый для определения, мл.

ФОРМА ЗАПИСИ

Концентрация P_2O_5 в растворе по графику, мг/50 мл	Объем пробы, взятый для анализа, мл	Содержание ортофосфатов в пробе воды, мг/л

Реактивы:

- 1) **реактив А:** 6 г молибденовокислого аммония, взвешенного с точностью не ниже 0,1 г растворить в 200 мл дистиллированной воды. 0,145 г сурмяновиннокислого калия взвесить с погрешностью не более 0,001 г, растворить в 100 мл дистиллированной воды. Охлажденные растворы прилить к 500 мл 5н раствора H_2SO_4 . Раствор перемешать и довести объем дистиллированной водой до 1 л. Реактив хранят в склянке из темного стекла;
- 2) **реактив Б:** 0,887 г аскорбиновой кислоты взвесить с погрешностью не более 0,001 г, растворить в 168 мл реактива А и довести объем дистиллированной водой до 1 л. Готовить в день определения.

6.8.2. Определение содержания в воде хлорид-ионов

Принцип метода

Метод основан на титриметрическом осаждении хлоридов в нейтральной или щелочной среде нитратом серебра в присутствии хромата калия в качестве индикатора. После осаждения избыток ионов серебра образует оранжево-красный осадок хромата серебра.

Метод применим практически для любого количества хлоридов в воде, однако при содержании менее 10 мг/л конец реакции менее отчетлив и погрешность возрастает. В этом случае пробу предварительно упаривают.

Определение хлоридов должно проводиться при рН в пределах от 6 до 10. Если величина рН выходит за указанные пределы, то воду необходимо нейтрализовать по фенолфталеину.

Ход анализа

В две конические колбы отобрать по 100 мл исследуемой воды (при предполагаемом высоком содержании хлора объем пробы уменьшают, но доводят его при этом до 100 мл дистиллированной водой).

В обе колбы вносят по 1 мл хромата калия. Затем одну пробу титруют раствором нитрата серебра (1 мл которого эквивалентен 0,5 мг хлоридов) до появления слабо-оранжевого оттенка, вторая колба служит контролем.

При значительном содержании хлоридов образуется осадок хлорида серебра, мешающий определению. В этом случае к оттитрованной первой пробе прибавляют 2-3 капли титрованного раствора хлорида натрия до исчезновения оранжевого оттенка, затем титруют вторую пробу, используя первую как контрольную.

Расчет результатов анализа

Содержание хлоридов вычисляют по формуле:

$$X = A \times K \times H \times 1000 / V, \quad (27)$$

где X – содержание хлоридов в пробе, мг/л;

A – количество нитрата серебра, израсходованное на титрование, мл;

K – поправка к титру раствора нитрата серебра;

H – количество хлоридов, соответствующее 1 мл раствора нитрата серебра, мг;

V – объем воды, взятый для определения, мл.

ФОРМА ЗАПИСИ

Объем пробы, взятой для определения, мл	Количество AgNO_3 , израсходованное на титрование, мл	Поправка к титру раствора AgNO_3	Количество хлоридов, соответствующее 1 мл р-ра AgNO_3	Содержание хлоридов в пробе, мг/л
-----------------------------------------	----------------------------------------------------------------	-------------------------------------------	----------------------------------------------------------------	-----------------------------------

--	--	--	--	--

Реактивы:

- 1) **раствор хромата калия 5%-ный**: 50 г хромата калия растворить в 950 мл дистиллированной воды;
- 2) **раствор нитрата серебра**: 4,8 г нитрата серебра растворить в 995,2 мл дистиллированной воды (1 мл раствора эквивалентен 1 мг хлоридов);
- 3) **титрованный раствор хлорида натрия**: 1,649 г хлорида натрия высушенного при 105⁰С до постоянной массы, растворить в 998,351 мл дистиллированной воды (1 мл раствора содержит 1 мг хлоридов).

6.8.3. Определение содержания в воде нитратов

Принцип метода

Метод основан на реакции между нитратами и дисульфофеноловой кислотой с образованием нитропроизводных фенола, которые со щелочами образуют окрашенные в желтый цвет соединения. Определению мешают хлориды в концентрации более 10 мг/л; их влияние устраняется в ходе анализа добавлением сульфата серебра. Чувствительность метода составляет 0,1 мг азота нитратов на 1 л.

Ход анализа

Пробу воды (примерно 200 мл) профильтровать через бумажный фильтр, промытый теплой дистиллированной водой. Первые 10 мл фильтрата удалить, а его остальное количество собрать в чистую сухую колбу емкостью 250 мл.

Для анализа отобрать 100 мл прозрачной воды или фильтрата, добавить раствор сульфата серебра в количестве, эквивалентном содержанию хлорид-иона в исследуемой пробе (см. предыдущий анализ). Затем пробу выпарить досуха в фарфоровой чашке на кипящей водяной бане. После охлаждения сухого остатка добавить в чашку 1 мл дисульфофеноловой кислоты и растереть стеклянной палочкой с резиновым наконечником до полного смешивания с сухим остатком. Затем добавить 15-20 мл дистиллированной воды, а через 10 минут – 5 мл концентрированного аммиака (для максимального развития окраски). Окрашенный раствор перенести в мерную кол-

бу на 100 мл, ополоснуть чашку небольшими порциями дистиллированной воды, сливая в ту же колбу, и довести объем до метки дистиллированной водой.

Оптическую плотность раствора определить на КФК-2 при длине волны 400 нм (чувствительность 3 черная, кювета 10 мм) по отношению к холостой пробе (дистиллированная вода с добавлением всех реактивов). По калибровочному графику определить содержание азота нитратов.

Построение калибровочного графика

0,7216 г KNO_3 , высушенного при $1-5^{\circ}C$ до постоянной массы, растворить в дистиллированной воде и количественно перенести в мерную колбу на 1 л. Затем дистиллированной водой объем раствора в колбе довести до метки. В 1 мл приготовленного (стандартного) раствора содержится 0,1 мг нитратного азота.

После этого 0,2; 0,5; 1,0; 1,5 и 2 мл стандартного раствора выпарить в фарфоровых чашках досуха, все остальные операции выполнить как при анализе пробы. В результате получается шкала с содержанием азота нитратов 0,02; 0,05; 0,10; 0,15 и 0,20 мг/100 мл.

Измерить оптическую плотность растворов и построить калибровочный график.

Таблица 6.5

Исходные данные для построения калибровочного графика

Номер раствора сравнения	Объем стандартного раствора, мл	Концентрация N-NO ₃ в растворе сравнения, мг/100 мл
1	0,2	0,02
2	0,5	0,05
3	1,0	0,01
4	1,5	0,15
5	2,0	0,02

Расчет результатов анализа

Содержание азота нитратов рассчитывают по формуле:

$$X = C \times 1000 / V, \quad (28)$$

где X – содержание азота нитратов (N-NO₃) в пробе, мг/л

C – концентрация $N-NO_3$ в анализируемой пробе, мг/100 мл;
 1000 – коэффициент для перевода в мг/л;
 V – объем воды, взятый для определения, мл.

ФОРМА ЗАПИСИ

Концентрация $N-NO_3$ в растворе по графику, мг/50 мл	Объем пробы, взятый для анализа, мл	Содержание азота нитратов в пробе воды, мг/л

Реактивы:

- 1) **раствор сульфата серебра:** 4,4 г сульфата серебра растворить в 995,6 мл дистиллированной воды;
- 2) **дисульфоголовова кислота:** 44,77 г чистого фенола смешать со 100 мл концентрированной H_2SO_4 (уд.вес 1,84) и нагревать 6 часов на водяной бане, закрыв колбу обратным холодильником (воронкой). Кислоту хранят в темной стеклянной бутылке в холодильнике;
- 3) **концентрированный аммиак.**

На основании полученных в ходе проведения анализов воды результатов делается заключение об экологическом состоянии водного источника по нижеследующей форме (табл. 6.6).

Таблица 6.6

Сводная таблица по результатам химического анализа воды

Показатели	Ед. изм.	Численное значение		Характеристика признака
		факт	норма	
Запах	балл			
Вкус	балл			
pH	ед. pH			
Взвешенные вещества	мг/л			
Сухой остаток	мг/л			
Содержание кислорода	O_2 , мг/л			
БПК ₇	мг/л			
ХПК	мг/л			
Ортофосфаты	мг/л			
Хлорид-ионы	мг/л			
Нитраты ($N-NO_3$)	мг/л			

Вопросы для контроля и самопроверки

1. Перечислите требования, которые предъявляются к составу воды поверхностных источников хозяйственно-питьевого водоснабжения.

2. Какие показатели качества воды определяются органолептическим способом?
3. Охарактеризуйте значение рН природных поверхностных вод.
4. Что характеризует содержание взвешенных веществ и сухого остатка в воде?
5. Каково значение растворенного кислорода в водных экосистемах?
6. Что такое ХПК и БПК? Назовите принципы их определения.
7. Назовите принципы определения нитратов, хлоридов и фосфатов в воде.
8. Охарактеризуйте анионный состав поверхностных вод как показатель их качества.
9. Как экологические проблемы водных экосистем связаны с поверхностным смывом почвенного покрова?

7. ТЕСТИРОВАНИЕ ЗАГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВ

Наряду с инструментальными методами оценки загрязнения природной среды, используется метод биотестирования. **Биотестирование** – это методический прием, позволяющий в лабораторных условиях выявить токсичность почвы, снега, сточной воды и прочих сред по реакции живых организмов – биотестов. В качестве биотестов могут быть использованы животные, растения и микроорганизмы.

Методы биотестирования позволяют существенно дополнить оценку складывающейся обстановки в экосистеме, проводимой с помощью общепринятых аналитических методов. Как известно, почва аккумулирует загрязнители, поступающие в нее с пылевидными выпадениями, дождевыми потоками и т.д. Количество и сочетание загрязнителей при этом может быть самым разнообразным: отходы промышленного и сельскохозяйственного производства, выхлопные газы автотранспорта, коммунально-бытовые отходы. Многие из загрязнителей, вступая между собой в сложные химические и физико-химические взаимоотношения, подвергаясь фотохимическому воздействию, могут значительно изменять свою токсичность как в сторо-

ну снижения, так и в сторону увеличения. Итогом этих реакций может быть изменение *общей токсичности среды обитания*.

В таких условиях определение состава загрязнителей при помощи стандартных физико-химических методов очень сложно, а зачастую и невозможно, так как требует огромных затрат времени, разнообразных химических реактивов и дорогостоящих сложных приборов. Но, даже определив общий состав загрязнителей, мы часто не в состоянии ответить на вопрос, каково их суммарное действие на биологические системы. Интегральную оценку влияния поллютантов, действующих в совокупности, можно дать только при использовании тест-организмов.

Используя индикаторный организм, можно изучить воздействие на него сразу всего комплекса факторов, как положительных, так и отрицательных, и по изменению его состояния дать общую оценку токсичности среды.

При оценке токсичности почвы в качестве биотестов могут использоваться растения. Известно, что устойчивость растения к неблагоприятным факторам среды зависит от его возраста, а точнее от фазы индивидуального развития. Прорастание семян – наиболее уязвимый этап индивидуального развития высших растений, когда наблюдается минимальная устойчивость к неблагоприятным факторам и, соответственно, максимальная чувствительность к их воздействию. В связи с этим растения в эту фазу развития представляют собой наиболее привлекательный объект тестирования и различные параметры прорастания являются показателями при проведении экологических экспериментов.

Основными параметрами, изучаемыми в процессе биотестирования, являются всхожесть и энергия прорастания семян.

Всхожесть – показатель, который характеризуется количеством семян, нормально проросших за определенный период времени при определенных оптимальных условиях проращивания (за исключением изучаемого фактора) по отношению к общему количеству взятых на проращивание семян, и выражается в процентах.

Энергия прорастания – это количество семян, нормально проросших за определенный срок (более короткий, чем установлен для определения всхожести) по отношению к общему количеству взятых на проращивание семян. Число нормально проросших семян выражают в процентах от общего числа семян, взятых для анализа.

У культур, семена которых прорастают несколькими зародышевыми корешками (например, рожь, пшеница, ячмень, овес и др.), к числу нормально проросших относят семена, имеющие не менее двух нормально развитых корешков размером более длины семени и росток размером не менее половины его длины с просматривающимися первичными листочками. У ячменя и овса длину ростка учитывают по той его части, которая вышла за пределы цветковых чешуй.

У культур, семена которых прорастают одним корешком (например, горох, кукуруза, просо, капуста), к числу нормально проросших относят семена, имеющие развитый главный зародышевый корешок размером более длины семени и сформировавшийся росток. При этом у культур, относящихся к двудольным растениям, росток должен иметь семядоли и хорошо развитое неповрежденное подсемядольное колено (у видов, выносящих семядоли на поверхность) или надсемядольное колено с нормальной верхушечной почечкой (у видов, не выносящих семядоли на поверхность), а у относящихся к однодольным – росток должен быть размером не менее половины длины семени и иметь просматривающиеся первичные листочки.

*Перечень необходимых для усвоения студентами
знаний и умений*

После изучения темы студент должен знать:

- причины, обуславливающие токсикоз почвы;
- значение анализов и область их применения;
- общие принципы определения токсичности почвы.

Студент должен уметь:

- определить общую токсичность почвы и микробный токсикоз;
- оценить полученные результаты;
- определить степень биологической деградации почвы;
- рассчитать критическую нагрузку на почвенную экосистему через эмиссию кислотных газов.

7.1. Определение токсичности почв методом почвенных пластин

7.1.1. Определение общего токсикоза

Токсичность почвы является результатом нарушения экологического равновесия в системе «почва-растение», вследствие чего возможна перегруппировка почвенных микроорганизмов в направлении повышения значимости патогенной для растительных и животных организмов микрофлоры.

Принцип метода

Метод заключается в определении всхожести и энергии прорастания семян, помещенных в чашки Петри на поверхность почвенных пластинок.

При проращивании семян необходимо соблюдать следующие условия:

- поддерживать в термостате требуемую температуру;
- ежедневно в чашки Петри пипеткой добавлять по 2 мл дистиллированной воды;
- ежедневно на несколько секунд приоткрывать чашки Петри для проветривания и предупреждения заплесневения семян.

Опыт проводится в нескольких повторениях с последующей статистической обработкой. Полученные результаты сравниваются с данными, полученными при определении всхожести и энергии прорастания семян в чашке Петри с незагрязненной (контрольной) почвой.

Ход работы

Испытуемую почву с помощью пинцета освободить от крупных корневых остатков и тщательно перемешать металлическим шпателем. Навеску почвы в 60 г поместить в чашку Петри. Почву увлажнить до состояния густой пасты и тщательно размазать по чашке Петри.

На поверхность почвенной пластинки разложить 50 семян тест-культуры, предварительно замоченных в течение суток в водопроводной воде. Одновременно в другую чашку Петри такое же количество семян, предварительно также замоченных в течение суток, поместить на незагрязненную почву (для контроля).

Семена проращивать в термостате при температуре 27⁰С. Период инкубации для определения энергии прорастания –3-4 дня, всхожести – 5-

7 дней. В ходе проращивания ежедневно следует производить проветривание чашек Петри и увлажнение почвы.

Результаты учета энергии прорастания и всхожести в опытной и контрольной почве служат для определения степени токсичности почвы.

ФОРМА ЗАПИСИ

№ п.п.	Показатель	Общее количество семян	Количество проросших семян	% проросших семян
1.	Всхожесть Энергия прорастания			
2.	Всхожесть Энергия прорастания			
3.	Всхожесть Энергия прорастания			
средн.	Всхожесть Энергия прорастания			

7.1.2. Определение микробного токсикоза

Фитотоксичные формы имеются у всех основных форм почвенных микроорганизмов. Но наибольшее их количество обнаружено среди микроскопических грибов (*Penicillium*, *Aspergillum*, *Fusarium*) и бактерий родов *Pseudomonas*, *Bacillus*. Встречаясь во всех почвах, они являются источниками фитотоксинов.

Химическая природа фитотоксических веществ, обуславливающих токсичность почв, весьма разнообразна. Это производные фенолов, хинонов, полипептиды и другие соединения. Разнообразны и физиологические свойства фитотоксинов. Они могут быть канцерогенными для животных, действовать как антагонисты по отношению к гиббереллинам и ауксинам, подавлять действие некоторых ферментов, воздействовать на РНК и ДНК и т.п.

Принцип метода

Микробный токсикоз определяют методом почвенных пластин с инициализированным микробным сообществом, которое получают после обогаще-

ния образца почвы крахмалом или глюкозой. Разница в результатах, полученных на почве с инициированным и неинициированным микробным сообществом, свидетельствуют о наличии микробного токсикоза.

Ход работы

На поверхность почвенной пластинки в чашке Петри нанести тонкий слой крахмала полоской в 1 см по диаметру чашки. Для этого на почвенную пластинку осторожно наложить два чистых листа бумаги так, чтобы расстояние между ними было 1 см; чашку с почвой перевернуть и по диаметру чашки приложить на 1 секунду к крахмалу. Лишнее количество крахмала сдуть сжатым воздухом так, чтобы осталась тонкая полоска не более 2-3 слоев крахмальных зерен.

Чашки с почвой поместить в другие чашки большего размера, на дно которых налита дистиллированная вода для поддержания постоянной влажности. Почву инкубировать во влажной камере в течение 2-х недель при 25⁰С. Затем на поверхность почвы разложить 50 семян тест-культуры. Через 3-5 суток определить энергию прорастания и всхожесть семян и сравнить их с результатами, полученными в опыте по определению токсикоза почвы методом почвенных пластин без активации микробного сообщества.

ФОРМА ЗАПИСИ

№ п.п.	Показатель	Общее количество семян	Количество проросших семян	% проросших семян
1.	Всхожесть Энергия прорастания			
2.	Всхожесть Энергия прорастания			
3.	Всхожесть Энергия прорастания			
средн.	Всхожесть Энергия прорастания			

7.2. Определение токсичности почв методом водной вытяжки

Принцип метода

Метод основан на изучении характеристик прорастания семян (всхожести и энергии прорастания), помещенных в чашки Петри с фильтровальной бумагой, увлажненной водной вытяжкой из изучаемой почвы. После установленного периода инкубации в оптимальных для прорастания условиях температуры и увлажнения производится учет количества проросших семян и рассчитывается их процент от общего количества, помещенного в чашки Петри.

Ход работы

Для проведения опыта производится отбор проб почвы в местах предполагаемого загрязнения. Контрольные образцы необходимо отобрать в лесу или в лесопарковой зоне на существенном расстоянии от источников загрязнения. Высушенную пробу почвы растереть и просеять через сито 0,5 мм.

Приготовить водные вытяжки из проб почвы по следующей методике. Навеску почвы 20 г поместить в коническую колбу емкостью 100-150 мл и прилить 50 мл дистиллированной воды. Содержимое колбы взболтать и оставить на 24 часа. После отстаивания произвести фильтрацию.

Продезинфицировать чашки Петри в сушильном шкафу при температуре 130° С в течение 2-х часов. Затем нарезать фильтровальную бумагу соответственно размеру чашки Петри, увлажнить ее до полной влагоемкости, опуская в фильтрат и давая стечь избытку влаги. Увлажненную фильтровальную бумагу уложить в чашку Петри в 2-3 слоя. На верхнюю крышку чашки поместить бумагу, диаметр которой на 2 см больше диаметра чашки, также предварительно доведя ее до полной влагоемкости.

Опыт провести в 3-х повторностях. В 3 чашки Петри отсчитать по 50-100 семян (в зависимости от их величины) сельскохозяйственных культур. Семена равномерно разложить в чашках на расстоянии 0,5-1,5 мм одно от другого и закрыть крышками. Чашки с семенами поместить в термостат при температуре 25-27° С.

Через 3-4 суток определить энергию прорастания семян, а через 7-8 суток – их всхожесть.

ФОРМА ЗАПИСИ

№ п.п.	Показатель	Общее количество	Количество проросших	% проросших
--------	------------	------------------	----------------------	-------------

		семян	семян	семян
1.	Всхожесть Энергия прорастания			
2.	Всхожесть Энергия прорастания			
3.	Всхожесть Энергия прорастания			
средн.	Всхожесть Энергия прорастания			

7.3. Оценка степени токсичности почв

Фитотоксичность почвы определяется путем сравнения показателей прорастания семян под действием изучаемой почвы с данными, полученными с незагрязненной почвой.

В качестве критерия фитотоксичности почвы используется кратность снижения контролируемых показателей в опытной почве по сравнению с незагрязненной. При этом фитотоксичность ранжируется по 5-балльной системе, приведенной в таблице 7.1.

Полученная оценка является дополнительным показателем, используемым при экологической характеристике почв и определении степени ее деградации, вызванной комплексом антропогенных факторов, влияющих на условия сохранения жизнеспособных функций почвенного покрова.

Таблица 7.1

Критерии для оценки степени деградации почвы по фитотоксичности

Показатель	Степень деградации, баллы				
	0	1	2	3	4
Фитотоксичность почвы, кратность снижения всхожести и энергии прорастания	<1,1	1,1-1,20	1,21-1,4	1,41-2,0	>2,0

При картографировании (районировании) территории и выявлении зон экологической напряженности, связанной с рассмотренными ранее проявлениями фитотоксичности, пользуются параметрами, представленными в таблице 7.2.

Таблица 7.2

Критерии для выделения зон экологической напряженности по фитотоксичности почвы

Снижение числа проростков	Площадь проявления показателя, %			
	< 5	5-19	20-50	> 50
Менее чем в 1,1 раза	1	1	1	1
В 1,1-1,2 раза	2	2	2	2
В 1,2-1,4 раза	2	3	3	4
В 1,4-2,0 раза	3	3	4	5
Более чем в 2,0 раза	3	4	4	5

Условные обозначения:

- 1 – зона относительного благополучия;
- 2 – зона экологического риска;
- 3 – зона экологического кризиса;
- 4 – зона экологического бедствия;
- 5 – зона экологической катастрофы.

7.4. Определение кислотно-щелочной буферности почв

Важнейшей характеристикой почв, которую следует учитывать при проведении почвенно-экологического мониторинга, является буферность.

Буферностью почв называют ее способность противостоять изменению своих свойств при воздействии различных факторов, в том числе при осуществлении человеком хозяйственной деятельности. Учитывая же, что в процессе сельскохозяйственного использования в почву поступает большое количество соединений в подвижной, наиболее активной форме, под буферной способностью понимают, прежде всего, способность почвы противостоять изменению содержания химических элементов в почвенном растворе.

При этом, однако, нужно учитывать, что подвижные соединения химических веществ, внесенных в почву, далее могут переходить в сопредельные с почвой среды (природные воды, растения) и в этом случае почва может представлять реальную угрозу для живых организмов.

Принято выделять несколько видов буферности почв, из которых в эколого-агрохимических исследованиях наиболее часто используется кислотно-щелочная буферность.

Кислотно-щелочная буферность почв является одной из фундаментальных почвенных характеристик. Традиционно она *определяется как способность почв противостоять изменению значения рН при добавлении кислоты или основания*. Первоначально значение работ по буферности почв было связано главным образом с проблемой почвенной кислотности и расчета доз известкования.

В последние десятилетия интерес к проблеме кислотно-щелочной буферности резко возрос в связи с неблагоприятным влиянием кислых осадков на почвы и экосистемы в целом во многих странах северного полушария.

В некоторых промышленно развитых регионах Европы, где высока эмиссия кислотных газов (диоксида серы и окислов азота), значение рН до-

ждевых осадков составляет 4,1-4,5 единиц. При этом с осадками на поверхность почвы попадает большое количество кислотных агентов, которые серьезно ухудшают свойства малобуферных почв: увеличивают подвижность тяжелых металлов и алюминия, выщелачивают биогенные элементы, разрушают биогенное вещество почвы и, следовательно, ее структуру и т.д.

Данные по буферности почв могут быть использованы для расчета критической нагрузки на почвенную экосистему, при которой не происходит серьезного изменения ее показателей в худшую сторону. При этом можно рассчитать допустимые масштабы эмиссии кислотных газов и использовать полученные знания для предоставления квот на загрязнение атмосферы. Последнее в настоящее время становится широко распространенной практикой в экологическом управлении производственной деятельностью.

Принцип метода

Метод заключается в регистрации значений рН при добавлении к почвенной суспензии кислоты или основания. Результаты определения рН на фоне внесения возрастающих количеств кислоты или основания представляют в графическом виде. В конечном итоге буферность выражают в количестве кислоты, необходимом для сдвига рН на некоторую величину (на 0,5 или 1 единицы рН) для 1 кг почвы.

Ход анализа

Поместить 10 г воздушно-сухой почвы, предварительно просеянной через сито с диаметром отверстий 1 мм, в стаканчик емкостью 100 мл и добавить 25 мл 0,1н раствора КС1. Взболтать суспензию на ротаторе или с помощью магнитной мешалки в течение 30 минут. Затем произвести определение рН потенциометрически. Результат определения занести в таблицу. После этого в стаканчик (\cong 100 мл) добавить из бюретки 2 мл 0,1н раствора НС1, если определяется кислотная буферность, или 2 мл 0,1н раствора NaOH, если определяется щелочная буферность. Суспензию вновь взболтать в течение 15 минут и определить рН. Данную операцию повторить еще 4 раза.

После этого построить график зависимости рН суспензии от возрастающих доз кислоты или щелочи в расчете на 2; 4; 6; 8 и 10 мл раствора, что соответствует 20; 40; 60; 80 и 100 ммольей кислоты или щелочи на 1 кг почвы. Далее определяется количество кислоты или щелочи, которое необходимо для сдвига значения рН на единицу. Полученную величину выражают в ммоль/(кг*рН).

ФОРМА ЗАПИСИ

Буферность	рН при добавлении раствора кислоты или щелочи, мл						Буферная емкость ммоль/(кг*рН)
	0	2	4	6	8	10	
Кислотная							
Щелочная							

Реактивы

- 1) **раствор KCl 0,1M:** 7,46 г хлорида калия растворяют в 992,46 мл бидистиллированной воды;
- 2) **раствор HCl 0,1M:** к 700 мл дистиллированной воды прибавляют 8,2 мл концентрированной HCl (уд. вес 1,19), перемешивают и доводят до 1 л дистиллированной водой;
- 3) **раствор NaOH 0,1M:** 4,001 г гидроксида натрия помещают в фарфоровый стакан вместимостью 1 л и вливают при постоянном перемешивании стеклянной палочкой 906 мл бидистиллированной воды. Помешивание продолжают до полного растворения кусочков щелочи. Раствор закрывают бумагой и оставляют стоять до следующего дня. Если раствор окажется мутным, его фильтруют через стеклянную вату или стеклянное полотно. Щелочь хранят в склянке с резиновой пробкой.

Вопросы для контроля и самопроверки

1. Дайте трактовку термина «биотестирование».
2. Какие существуют методы биотестирования?
3. Что такое «всхожесть» и «энергия прорастания семян»?
4. Какие семена относят к нормально проросшим?
5. С чем может быть связано формирование «микробного токсикоза» почв?
6. Перечислите и дайте характеристику показателей, которые используются при оценке степени фитотоксичности почв.
7. Дайте трактовку терминам «буферность» и «кислотно-щелочная буферность» почв.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

После освоения курса студент будет знать методы контроля за содержанием токсикантов в природных средах и уметь провести диагностику объекта, пораженного ими; методически правильно отобрать средний образец почвы, растений или природных вод и провести все операции подготовки его к анализу; провести качественный и количественный анализ экотоксикантов в различных природных средах и оценить риск их отрицательного воздействия на экологическую обстановку. Полученные навыки позволят ему на основе аналитических данных разработать систему мер по нейтрализации токсикантов и профилактические средства по снижению отрицательных последствий для экосистем, а в дальнейшем – предложить мероприятия по предотвращению поступления токсикантов в пищевые цепи.

Таким образом, комплекс рассмотренных в методическом пособии лабораторных и лабораторно-экспериментальных методов по определению химического состава и трактовке полученных результатов, даст возможность исследователю сделать квалифицированный вывод об агроэкологическом состоянии компонентов экосистемы в зоне антропогенного воздействия.

СЛОВАРЬ ПОНЯТИЙ И ТЕРМИНОВ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В РАБОТЕ

Биохимическое потребление кислорода (БПК) – это показатель, характеризующий содержание в воде легкоокисляемых органических соединений, устанавливаемый за определенный период (5 или 10 суток).

Биотестирование – это методический прием, позволяющий в лабораторных условиях выявить токсичность почвы, снега, сточной воды и прочих сред по реакции живых организмов (биотестов).

Биотесты – животные, растения или микроорганизмы, используемые для установления наличия и степени токсичности компонентов окружающей среды.

Буферность почвы – это ее способность противостоять изменению своих свойств при воздействии различных факторов, в том числе при осуществлении человеком хозяйственной деятельности.

Всхожесть семян – показатель, который характеризуется количеством семян, нормально проросших за определенный период времени при определенных оптимальных условиях проращивания (за исключением изучаемого фактора) по отношению к общему количеству взятых на проращивание семян (% проросших семян).

Дыхание почвы – способность почвы к продуцированию углекислоты как следствие активности жизненных процессов микрофлоры (мг CO_2 /10 г почвы /24 часа).

Единичная проба почвы – проба определенного объема, взятая однократно из почвенного горизонта (слоя)

Загрязнение окружающей среды – это поступление в среду любых твердых, газообразных или жидких веществ, микроорганизмов или энергий (тепловой, электромагнитной, радиационной и т.д.) в количествах, вызывающих изменения состава и свойств компонентов экосистемы и оказывающих вредное воздействие на человека.

Загрязнение поверхностных природных вод – это процесс изменения физических, химических или биологических свойств природных вод при попадании в них различных веществ, которые могут оказать вредное воздействие на человека и экосистемы, ограничивая возможности использования воды в быту и производстве.

Качество воды – это характеристика ее состава и свойств, определяющая пригодность воды для хозяйственно-бытового использования.

Кислотно-щелочная буферность почвы определяется как способность почв противостоять изменению значения pH при добавлении кислоты или основания и выражается в количестве кислоты, необходимом для сдвига pH на некоторую величину (на 0,5 или 1 единицы pH) для 1 кг почвы.

Коэффициент биоаккумуляции – это отношение концентрации элемента в растении к содержанию его в почве.

Микробный токсикоз – токсичность почвы после активации микробного сообщества (обогащения образца почвы крахмалом или глюкозой) (% проросших семян).

Нитрифицирующая активность почв – способность азотсодержащих органических соединений почвы к минерализации, оцениваемая по количеству нитратного азота, образующегося в почве за определенный промежуток времени в расчете на единицу ее массы (мг NO_3^- /кг почвы за 14 суток).

Общий токсикоз почвы – токсичность почвы без активации микробного сообщества (% проросших семян).

Объединённая проба почвы – проба почвы, состоящая из заданного количества единичных проб

Объединенная проба растительной продукции – совокупность всех точечных проб растительной продукции, отобранных с одного поля или из одной партии;

Предельно допустимая концентрация элемента или вещества в окружающей среде – концентрация, при воздействии которой на организм человека периодически или в течение всей жизни прямо или опосредованно через экологические системы, а также через возможный экономический ущерб не возникает соматических или психических заболеваний (в т.ч. скрытых или временно компенсированных), или изменений состояния здоровья, выходящих за пределы приспособительных физиологических реакций, обнаруживаемых современными методами сразу или в отдаленные сроки жизни настоящего и последующего поколений.

Предельно допустимая концентрация элемента или вещества в почве – это максимальное его количество (в мг на 1 кг пахотного слоя абсолютно сухой почвы), установленное в экстремальных почвенно-климатических условиях, которое гарантирует отсутствие отрицательного (прямого или опосредованного через контактирующие с почвой среды) воздействия на здоровье человека, его потомство и санитарные условия жизни.

Репрезентативность – это такая характеристика отдельных единиц изучаемой статистической совокупности, которая наиболее адекватно (при определенном уровне вероятности) отражает исследуемое явление в целом. Репрезентативность отбора образцов – понятие комплексное и определяется способом отбора, количеством объединенных проб на единицу площади, количеством точечных проб, слагающих объединенную пробу, объемом (массой).

Санитарно-гигиеническая оценка степени загрязнения почв и растений – система соотнесения фактически определенной концентрации элемента с предельно (или ориентировочно) допустимой концентрацией вещества или элемента.

Составная проба воды – это проба, состоящая из нескольких точечных проб.

Средняя проба растительной продукции – часть объединенной пробы, выделенная для анализов.

Суммарный показатель загрязнения – сумма отношений содержания элементов в исследуемой почве к содержанию их в фоновой почве.

Точечная проба растительной продукции – небольшое количество растительного материала, отобранного из одного места за один прием.

Точечная проба воды – это проба, отобранная за один прием.

Тяжелые металлы – элементы, имеющие атомную массу, превышающую 50 а.е.м., которые встречаются в окружающей среде в экзогенных повышенных концентрациях и могут оказывать на растения и животных токсическое воздействие.

Уровень фитотоксичности почвы – соотношение контролируемых показателей (например, средней длины корней проростков) на анализируемом и контрольном вариантах. Может быть выражен в относительных единицах (по кратности) или в процентах.

Ферментативная активность почвы – активность отдельных ферментов (например, каталазы из класса оксидоредуктаз и инвертазы из класса гидролаз), находящихся в почве, которая выражается в количестве перера-

ботанного субстрата или образующегося в течение определенного промежутка времени продукта реакции и рассчитывается на единицу массы почвы.

Фитотоксичность почвы – токсичность почвы, определяемая по реакции растения на загрязнение (например, по влиянию на всхожесть или на длину корней).

Химическое потребление кислорода (ХПК), или окисляемость – это показатель, характеризующий общее количество содержащихся в воде восстановителей неорганического или органического происхождения, реагирующих с сильными окислителями.

Целлюлолитическая активность почвы – способность почвы к разложению целлюлозы, выражаемая в процентах от поступившей в почву клетчатки.

Энергия прорастания – это количество семян, нормально проросших за определенный срок (более короткий, чем установлен для определения всхожести) по отношению к общему количеству взятых на проращивание семян (% проросших семян).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Агрохимические методы исследования почв / Под ред. А.В. Соколова. – М.: Наука, 1975.
2. Агрохимия / Под ред. В.М. Ключковского, А.В. Петербургского. – М.: Колос, 1967.
3. Агрохимия / Под ред. Б.А. Ягодина – М.: Агропромиздат, 1989.
4. Алексеенко В.А. Экологическая геохимия. – М.: Логос, 2000. – 627 с.
5. Временные методические рекомендации по контролю загрязнения почв. Ч.1 / Под ред. С.Г. Малахова. – М.: Гидрометеиздат, 1983.
6. Галиулин Р.В., Галиулина Р.А. Фитоэкстракция тяжелых металлов из загрязненных почв // Агрохимия. – 2003. – № 3. – С. 77-85.
7. Гапонюк Э.И., Малахов С.Г. Комплексная система показателей экологического мониторинга почв // Миграция загрязняющих веществ в почвах и сопредельных средах. – Л.: Гидрометеиздат, 1985.
8. Геохимия окружающей среды. – М.: Недра, 1990.
9. Гришина Л.А., Копцик Г.Н., Моргун Л.В. Организация и проведение почвенных исследований для экологического мониторинга. – М.: Изд-во МГУ, 1991.
10. Дабахов М.В., Дабахова Е.В., Титова В.И. Тяжелые металлы: экотоксикология и проблемы нормирования. – Н.Новгород, 2005. – 164 с.
11. Дмитриев Е.А. Математическая статистика в почвоведении. – М.: Изд-во МГУ, 1995.
12. Ковда В.А. Биогеохимия почвенного покрова. – М.: Наука, 1985.
13. Методические рекомендации по выявлению деградированных и загрязненных земель. – М., 1995.
14. Методические указания МУ 2.1.7.730-99. Гигиеническая оценка качества почвы населенных пунктов. – М., 1999.
15. Методические указания по проведению комплексного мониторинга плодородия почв земель сельскохозяйственного назначения. – М., 2003. – 195 с.
16. Методы агрохимического анализа. Определение подвижных форм микроэлементов в почвах. ОСТ 10 144-88 - ОСТ 10 150-88. – М., 1988.
17. Методы исследований органического вещества почв. – Владимир: ВНИПТИ-ОУ, 2005.
18. Методы почвенной микробиологии и биохимии / Под ред. Д.С. Звягинцева. – М., 1980.
19. Муравин Э.А., Титова В.И. Агрохимия. – М.: КолосС, 2009. – 463 с.: ил.
20. Некоторые вопросы токсичности ионов металлов / Под ред. Х. Зигель, А. Зигель. – М.: Мир, 1993.

21. Основные микробиологические и биохимические методы исследования почвы (Метод. рекомендации). - Л., 1987.
22. Основы систем земледелия Горьковской области. - Горький: Волго-Вятское кн. изд-во, 1982.
23. Петербургский А.В. Практикум по агрономической химии. - М.: Сельхозиздат, 1963.
24. Почвенно-экологический мониторинг и охрана почв / Под ред. Д.С. Орлова, В.Д. Васильевской. - М.: Изд-во МГУ, 1994.
25. Практикум по агрохимии / Под ред. Б.А. Ягодина. - М.: Агропромиздат, 1987.
26. Практикум по агрохимии / Под ред. В.Г. Минеева. - М.: Изд-во МГУ, 1989.
27. Роуэлл Д.Л. Почвоведение: методы и использование. - М.: Колос, 1998. - 486 с.
28. Снакин В.В. и др. Система оценки степени деградации почв. - М., 1992.
29. Состояние окружающей среды и природных ресурсов Нижегородской области в 1997-2004 гг.: Ежегодный доклад/ Н. Новгород: Изд-во Волго-Вятской академии государственной службы.
30. Титова В.И., Дабахов В.И., Дабахова Е.В. Некоторые подходы к экологической оценке загрязнения земельных угодий// Почвоведение. - 2004.- № 10.- с. 1264-1267.
31. Хазиев Ф.Х. Методы почвенной энзимологии. - М.: Наука, 1990.
32. Химия тяжелых металлов, мышьяка и молибдена в почвах / Под ред. Н.Г. Зырина, Л.К. Садовниковой. - М.: Изд-во МГУ, 1985.
33. Экогеохимия городских ландшафтов / Под ред. Н.С. Касимова. - М.: Изд-во МГУ, 1995.
34. Manual for the integrated monitoring. Programme Phase 1993-1996. Environment Data Centre, Helsinki, 1993.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Предельно допустимые концентрации
химических веществ в почвах

Элемент, химическое вещество	ПДК, мг/кг почвы
Валовые формы	
Ванадий	150
Марганец	1500
Марганец+ванадий	1000+100
Мышьяк	2,0
Олово	4,5
Ртуть	2,1
Свинец	32
Сурьма	4,5
Хром (+3)	90
Сернистые соединения*	160
Сероводород	0,4
Нитраты	130
Водорастворимая форма	
Фтор	10
Подвижные формы **	
Свинец	6
Никель	4
Хром	6
Медь	3
Цинк	23
Кобальт	5
Марганец: для черноземов	700
для дерново-подзолистых почв при рН 4,0	300
рН 5,1-6,0	400
рН > 6,0	500

* - в пересчете на серу;

** - подвижные формы меди, никеля и цинка извлекают из почвы аммонийно-ацетатным буферным раствором с рН 4,8; кобальта - аммонийно-натриевым буферным раствором с рН 3,5 для сероземов и рН 4,7 для дерново-подзолистых почв.

Ориентировочно допустимые концентрации (ОДК) тяжелых металлов
и мышьяка в почвах с различными физико-химическими свойствами
(валовое содержание, мг/кг)

№ п.п.	Элемент	Группа почв	ОДК, мг/кг	Агрегатное состояние вещества в почвах	Классы опасности	Особенности действия на организм
1	2	3	4	5	6	7
1.	Никель	а) песчаные и супесчаные б) кислые (суглинистые и глинистые), $pH_{KCl} < 5,5$ в) близкие к нейтральным, нейтральные (суглинистые и глинистые), $pH_{KCl} > 5,5$	20 40 80	Твердое: в виде солей, в сорбированном виде, в составе минералов	2	Для теплокровных и человека малотоксичен. Ингибитор оксидаз. Обладает мутагенным действием.
2.	Медь	а) песчаные и супесчаные б) кислые (суглинистые и глинистые), $pH_{KCl} < 5,5$ в) близкие к нейтральным, нейтральные (суглинистые и глинистые), $pH_{KCl} > 5,5$	33 66 132	Твердое: в виде солей, органоминеральных соединений, в сорбированном виде, в составе минералов	2	Повышает клеточную проницаемость, ингибирует глутатиоредуктазу, нарушает метаболизм, взаимодействуя с $-SH$, $-NH_2$ и $-COOH$ группами.
3.	Цинк	а) песчаные и супесчаные б) кислые (суглинистые и глинистые), $pH_{KCl} < 5,5$ в) близкие к нейтральным, нейтральные	55 110 220	Твердое: в виде солей, органоминеральных соединений, в сорбированном виде, в составе минералов	1	Недостаток или избыток вызывают отклонения в развитии. Отравления при нарушении технологии внесения цинксодержащих пес-

		(суглинистые и глинистые), $pH_{KCl} > 5,5$				тицидов.
4.	Мышь-як	а) песчаные и супесчаные б) кислые (суглинистые и глинистые), $pH_{KCl} < 5,5$ в) близкие к нейтральным, нейтральные (суглинистые и глинистые), $pH_{KCl} > 5,5$	2 5 10	Твердое: в виде солей, органоминеральных соединений, в сорбированном виде, в составе минералов	1	Ядовитое вещество, ингибирующее различные ферменты, отрицательное действие на метаболизм. Возможно канцерогенное действие.
5.	Кадмий	а) песчаные и супесчаные б) кислые (суглинистые и глинистые), $pH_{KCl} < 5,5$ в) близкие к нейтральным, нейтральные (суглинистые и глинистые), $pH_{KCl} > 5,5$	0,5 1,0 2,0	Твердое: в виде солей, органоминеральных соединений, в сорбированном виде, в составе минералов	1	Сильно ядовитое вещество, блокирует сульфгидрильные группы ферментов, нарушает обмен железа и кальция, нарушает синтез ДНК.
6.	Свинец	а) песчаные и супесчаные б) кислые (суглинистые и глинистые), $pH_{KCl} < 5,5$ в) близкие к нейтральным, нейтральные (суглинистые и глинистые), $pH_{KCl} > 5,5$	32 65 130	Твердое: в виде солей, органоминеральных соединений, в сорбированном виде, в составе минералов	1	Разностороннее негативное действие. Блокирует -SH группы белков, ингибирует ферменты, вызывает отравления, поражения нервной системы

Приложение 3

Классификация почв по содержанию и степени загрязнения тяжелыми металлами (мг/кг воздушно-сухой почвы, общее содержание для почв с кислой и слабокислой реакцией)

Уровни содержания и загрязнения	Свинец	Кадмий	Цинк	Медь	Никель	Ртуть
<u>Содержание:</u>						
очень низкое	<5	<0,05	<15	<5	<10	<0,05
низкое	5-10	0,05-0,10	15-30	5-15	10-20	0,05-0,10
среднее	10-35	0,10-0,25	30-70	15-50	20-50	0,10-0,25
повышенное	35-70	0,25-0,50	70-100	50-80	50-70	0,25-0,50
высокое	70-100	0,50-1,00	100-150	80-100	70-100	0,50-1,00
оч. высокое	100-150	1-2	150-200	100-150	100-150	1-2
<u>Загрязнение:</u>						
низкое	100-150	1-2	150-200	100-150	100-150	1-2
среднее	150-500	2-5	200-500	150-250	150-300	2-5
высокое	500-1000	5-10	500-1000	250-500	300-600	5-10
оч. высокое	>1000	>10	>1000	>500	>600	>10

Мероприятия по использованию почв
в зависимости от их загрязнения тяжелыми металлами

Уровень содержания и загрязнения	Мероприятия
<u>Содержание:</u> очень низкое, низкое	Для биологически важных элементов (цинк, медь и др.) необходимы микроудобрения или добавки в корма в зависимости от содержания подвижных форм соединений элементов в почвах и содержания их в продукции
среднее	Не требуются
повышенное	Устранение влияния источника загрязнения и периодический контроль почв и продукции
высокое	Обязательное устранение влияния источника загрязнения, постоянный контроль содержания тяжелых металлов в почвах и продукции
оч. высокое (низкий уровень загрязнения)	Подбор сельскохозяйственных культур, не накапливающих тяжелые металлы, комплекс агротехнических мер по уменьшению поступления тяжелых металлов в продукцию (известкование, применение органических и минеральных удобрений); исключить выращивание зеленных культур и овощей
<u>Загрязнение:</u> среднее	Выращивание культур, не накапливающих тяжелые металлы (зерновые на зерно, семенники трав, технические культуры, саженца плодовых и ягодных культур, цветоводство) с обязательным применением комплекса агротехнических мер по снижению поступления тяжелых металлов в продукцию
высокое, оч. высокое	Исключить выращивание культур для продовольственных целей. Необходимы дополнительные разработки по рекультивации почв.

Титова Вера Ивановна
Дабахова Елена Владимировна
Дабахов Максим Владимирович

**Агро- и биохимические методы
исследования состояния экосистем**
Учебное пособие

Лицензия ЛР № 040284
Подписано в печать 28.02.11. Формат 60x80 1/16
Печать офсетная. Усл. печ. листов 12,21
Тираж 500 экз. Заказ № 6201

Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия
603107, г. Н. Новгород, пр. Гагарина, 97

Издательство Волго-Вятской академии государственной службы
603600, Нижний Новгород-292, пр. Гагарина, 46
тел. (831) 412-33-01