

ГЛАВА 7

à Öí éÑàóÖëääàÖ ì äÄáÄÇ àü
èé àëèéãúáéÇÄÇ àû
î ÖêàÖÇíÄíàÇÇõï èéäÄáÄíÖãÖâ
Ñãü éñÖÇää èéëãÖÑëíÇàâ
áÄÉêüáÇÖÇ àü èéóÇ

7.1. ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ

Все возрастающее загрязнение окружающей среды создает угрозу стойкого и необратимого изменения химического состава, физических, биохимических и микробиологических свойств почвы, определяющих ее плодородие. Для оценки состояния почвы в измененных и изменяющихся условиях окружающей среды основное значение приобретают не собственно количественные характеристики загрязнений, а их последствия.

Почва подвергается интенсивному антропогенному влиянию и служит одним из опасных звеньев циркуляции промышленных и сельскохозяйственных токсических веществ. Разнообразные химические реакции в почве, связанные с обменом веществ, разложением и синтезом органических веществ, миграцией химических соединений, мобилизацией питательных элементов другими факторами, осуществляются ферментативно. Высокая чувствительность, точность, относительная простота и нетрудоемкость методов определения активности почвенных ферментов позволяют использовать их при оценке интенсивности и направленности важнейших для жизни и плодородия почвы биохимических процессов. По активности ферментов судят об агрономически значимых

показателях, плодородии, превращении гумусовых веществ, окислительно-восстановительном режиме почвы. Активность ферментов отражает интенсивность основных биохимических процессов — самоочищения почвы и разложения органических соединений азота, фосфора, углерода, а также степень эродированности и загрязнения почвы.

Биодиагностика состояния и степени загрязнения почв по ферментативным показателям приобрела в последнее время особенно важное значение. Отсутствие стандартных, унифицированных методов определения активности почвенных ферментов затрудняет выявление возможности и области использования ферментов в целях биодиагностики.

7.2. ВЫБОР ПОКАЗАТЕЛЕЙ ДЛЯ ОЦЕНКИ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ПОЧВ

Использование ряда ферментативных показателей при оценке общей биологической активности плодородия почвы в настоящее время общепринято. В качестве диагностического показателя загрязнения почв наиболее перспективными оказались ферменты класса оксидоредуктаз, в частности дегидрогеназы. Показана высокая корреляция активности дегидрогеназ в почве с активностью протеаз, интенсивностью процессов нитрификации, азотфиксации, "дыхания" (по CO_2), поглощением почвой кислорода и плодородием. Высокая чувствительность дегидрогеназ к химическим веществам используется при оценке токсичности сточных вод промышленных предприятий. Все это послужило основанием при выборе активности дегидрогеназ в качестве одного из диагностических показателей загрязнения почв.

Учитывая то, что окислительно-восстановительные и гидролитические процессы в почве протекают сопряженно и часть энергии, образованной в одних реакциях, используется в других, при биодиагностике загрязнения почв необходимо проводить определение активности гидролитических ферментов. Особенное внимание среди гидролаз следует обратить на фосфатазу, с помощью которой осуществляется метаболизм фосфора в почве, и уреазу, с действием которой связано превращение азотсодержащих соединений в почве. Высокая чувствительность уреазы и фосфатазы к действию металлов и пестицидов послужила основанием для выбора этих показателей в качестве индикаторов загрязнения почв. Продуциро-

вание CO_2 является результатом сопряженно протекающих гидролитических и окислительно-восстановительных процессов, которые в основном определяются биологическими факторами. "Дыхание" почвы (выделение CO_2) выбрано как интегральный показатель, характеризующий действие оксидаз (дегидрогеназы) и гидролаз (фосфатазы и уреазы).

7.3. ОТБОР И ПОДГОТОВКА ПОЧВЕННЫХ ОБРАЗЦОВ К АНАЛИЗУ

Методика отбора почвенных образцов определяется поставленными перед исследователем задачами. При исследовании влияния антропогенных загрязнений на активность почвенных ферментов в промышленных и сельскохозяйственных районах отбор почвенных образцов проводится на глубине пахотного слоя (0–5–7 см). Ферментативная активность почв значительно уменьшается с глубиной, что необходимо иметь в виду при отборе проб. При определении ферментативной активности на каждую делянку площадью 100 м² рекомендуют брать пять образцов. Каждый образец составляют из трех смешанных проб. Если площадь делянки меньше 100 м², то достаточно брать три образца по диагонали, составленные из трех смешанных проб. Каждый образец анализируют отдельно.

Для анализов почву тщательно очищают от корней, других растительных остатков и прочих включений, высушенные пробы растирают и просеивают через сито с диаметром отверстий 2 мм.

Во всех случаях показатели ферментативной активности переводят на массу воздушно-сухой или абсолютно сухой почвы и обязательно указывают, какие образцы почвы (сухие или естественно-влажные) проанализированы.

7.4. ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ ДЕГИДРОГЕНАЗ

1 г воздушно-сухой почвы, а влажной — с учетом влажности, помещают в стеклянную пробирку и поливают 2 мл 0,3 %-ного водного раствора ТТХ, суспензию тщательно перемешивают и помещают в термостат на 24 ч при темпера-

туре 30 °С. После инкубации смесь центрифугируют в течение 5 мин при частоте 3000 об/мин, надосадочную жидкость сливают.

Для извлечения формазана, образовавшегося в процессе восстановления ТТХ, почву заливают 7,5 мл ацетона. Экстракцию проводят в течение 1 ч. Затем пробирки со смесью тщательно встряхивают и центрифугируют 5 мин при частоте 3000 об/мин. Окрашенный раствор сливают в пробирки и колориметрируют на ФЭК с синим светофильтром, используя кюветы толщиной 5 или 1 мм в зависимости от концентрации растворов.

Количество формазана рассчитывают по калибровочной кривой (рис. 7.1) и выражают в микролитрах водорода (мкл H_2 на 1 г почвы · ч) с учетом того, что на образование 1 мг формазана необходимо 150,35 мкл водорода.

Результаты измерений активности дегидрогеназ в чистых и загрязненных образцах характеризуют соответствующие состояния почвенной микрофлоры.

Расчет активности дегидрогеназ ведется по формуле

$$АД = Cb150,35/aT10, \quad (7.1)$$

где C — концентрация формазана, найденная по калибровочной кривой; a — навеска почвы, г, $a = 1$ г; T — время

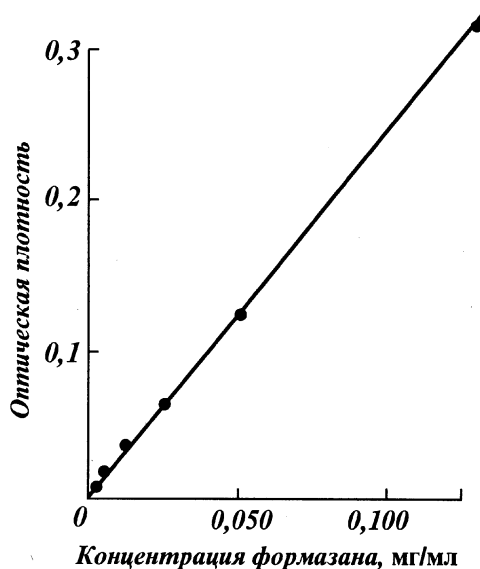


Рис. 7.1. Калибровочный график для определения концентрации формазана

Таблица 7.1

Результаты определения активности дегидрогеназ

Дата	Номер варианта	Толщина кюветы, мм	Показания ФЭК D	АД	Среднее значение АД	Примечание
	2	1	0,049 0,039 0,040 0,044	0,90 0,72 0,74 0,81	0,79	

инкубации, ч, $T = 24$ ч; 10 — объем формазана, используемый при построении калибровочной кривой, мл; b — количество ацетона, необходимое для извлечения формазана, мл, $b = 7,5$ мл.

На основании закона Бера C можно выразить как

$$C = D/K_1, \quad (7.2)$$

где C — концентрация поглощающего вещества; D — показания ФЭК, характеризующие поглощение света; K_1 — коэффициент пропорциональности.

Подставляя это выражение в формулу для определения активности дегидрогеназ, получают

$$АД = \frac{Db150,35}{K_1aT10}. \quad (7.3)$$

При использовании кюветы толщиной 1 мм

$$АД = \frac{D7,5 \cdot 150,35}{2,55 \cdot 1 \cdot 24 \cdot 10} = 18,43. \quad (7.4)$$

Результаты фотоэлектроколориметрирования и вычисления АД записывают по образцу, представленному в табл. 7.1.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ СТАНДАРТНЫХ РАСТВОРОВ И ПОСТРОЕНИЕ КАЛИБРОВОЧНЫХ КРИВЫХ

Стандартный раствор ТФФ. 25 мг ТФФ взвешивают на аналитических весах, растворяют в 100 мл ацетона при нагревании до 30 °С на водяной бане. Концентрация полученного основного раствора 0,25 мг/мл. Раствор готовят непосредственно перед употреблением.

Стандартные рабочие растворы ТФФ. Эти растворы готовят из основного раствора, разводя его в 2,5; 10; 20; 50 и 100 раз ацетоном. Для этого в градуированные пробирки помещают 5; 2; 2; 0,5; 0,2 и 0,1 мл основного раствора ТФФ и

Таблица 7.2

**Результаты измерения оптической плотности ($X \pm S$)
рабочих растворов ТФФ**

Толщина кюветы, мм	Концентрация ТФФ, мг/мл	Средняя оптическая плотность D
1	0,0025	$0,0088 \pm 0,0015$
	0,0050	$0,0163 \pm 0,0026$
	0,0125	$0,0330 \pm 0,0053$
	0,0250	$0,0620 \pm 0,0014$
	0,0500	$0,1213 \pm 0,0092$
	0,1250	$0,3045 \pm 0,0098$

доливают до 10 мл ацетоном. Содержимое пробирок тщательно перемешивают и оставляют на 5 мин. Каждая концентрация готовится в трех-четыре повторностях. В течение 1 ч после приготовления рабочие растворы должны быть проанализированы, при этом не следует допускать попадания на них прямых солнечных лучей. Интенсивность окраски рабочих растворов ТФФ, содержащих от 0,0025 до 0,1250 мг/мл вещества, измеряют на ФЭК с синим светофильтром, используя кювету толщиной 1 мм.

Результаты измерения оптической плотности рабочих растворов приведены в табл. 7.2. Калибровочная кривая, построенная по этим данным, представлена на рис. 7.1. Линейная зависимость оптической плотности от концентрации сохраняется в интервале от 0,0025 до 0,1250 мг/мл.

Значение средней оптической плотности определяли по формуле

$$\bar{X} = \frac{\sum X_i}{n}, \quad (7.5)$$

а значение S (оценка среднего квадратичного отклонения) — по формуле

$$S = \sqrt{\frac{\sum (X_i - \bar{X})^2}{n - 1}}. \quad (7.6)$$

Оценки получены при $n = 4$.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАБОЧИХ РАСТВОРОВ

0,5 %-ный раствор 2,3,5-ТТХ. 0,5 г 2,3,5-ТТХ растворяют в 100 мл дистиллированной воды. Раствор готовят перед употреблением.

Основной раствор ТФФ. 25 мг ТФФ растворяют в 100 мл ацетона при нагревании до 30 °С на водяной бане.

РЕАКТИВЫ

Ацетон, ч.д.а., ГОСТ 2606—63.

Трифенил — третразолий хлористый (2,3,5-ТТХ), ч.д.а., МРТУ 6-09-5328—68.

Трифенилформазан (формаза: 2,3,5-ТФФ) получают следующим образом. 2,3,5-ТТХ растворяют в 5 мл дистиллированной воды. 1,26 г гидросульфита натрия NaHSO_3 растворяют в 5 мл дистиллированной воды. Растворы сливают, после выпадения темно-красного осадка смесь фильтруют через стеклянный пористый фильтр и осадок промывают на фильтре дистиллированной водой до отсутствия реакции на хлориды (с 0,5 %-ным раствором AgNO_3). Осадок (2,3,5-трифенилформазан) высушивают в сушильном шкафу.

Гидросульфит натрия, ч.д.а., ТУ МХПГХП 126—56.

Азотнокислое серебро, ч.д.а., ГОСТ 1277—63.

7.5. ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ ФОСФАТАЗЫ (АФ)

Навеску почвы (1 г воздушно-сухой почвы, а влажной — с учетом влажности) помещают в пробирку и заливают 2 мл 1 %-ного раствора фенолфталеинфосфата натрия, рН которого доводят до 7,0. Пробирки закрывают резиновыми пробками, тщательно взбалтывают и помещают в термостат на 3 ч при 30 °С. После инкубации для извлечения продукта гидролиза органического субстрата (фенолфталеина) и получения бесцветных и прозрачных почвенных вытяжек в каждую пробирку добавляют по 5 мл 0,1 М CaCl_2 и 0,1 % K_2SO_4 , хорошо перемешивают и центрифугируют в течение 10 мин при частоте 3000 об/мин. Надосадочную жидкость сливают в чистые пробирки.

К 5 мл центрифугата доливают 5 мл 10 %-ного раствора аммиака.

Окрашенный в розовый цвет раствор колориметрируют на ФЭК с синим светофильтром, используя кювету толщиной 20 мм. Окраска устойчива в течение 1 ч. Активность фосфатазы выражают в мг фенолфталеина на 1 г воздушно-сухой почвы за 1 ч (мг/(г · ч)). Количество фенолфталеина, отщепленного от фенолфталеинфосфата натрия под действием фосфатазы, находят по калибровочной кривой.

Расчет активности фосфатазы ведется по формуле

Таблица 7.3

Пример записи результатов вычисления АФ

Дата	Номер варианта	Толщина кюветы, мм	Показания ФЭК D	АФ	Среднее значение АФ	Примечание
	1	20	0,115	0,10	0,10	
			0,109	0,10		
			0,120	0,11		
			0,118	0,10		
	2		0,200	0,18	0,18	
			0,205	0,18		
			0,200	0,18		
			0,195	0,17		

$$\text{АФ} = CV_1/V_2aT, \quad (7.7)$$

где C — концентрация фенолфталеина, найденная по калибровочной кривой; V_1 — количество раствора для приготовления почвенной вытяжки, мл, $V_1 = 7$ мл; V_2 — количество аликвоты, мл, $V_2 = 5$ мл; a — навеска почвы, г, $a = 1$, г; T — время инкубации, ч, $T = 3$ ч.

Значение C вычисляют по формуле (7.2).

Подставляя это выражение в формулу для определения активности фосфатазы, получают

$$\text{АФ} = \frac{DV_1}{K_1V_2aT}. \quad (7.8)$$

При использовании кюветы толщиной 20 мм

$$\text{АФ} = \frac{D7}{0,53 \cdot 5 \cdot 1,3} = 0,88. \quad (7.9)$$

Результаты фотоэлектроколориметрирования и вычисления АФ записывают по образцу, представленному в табл. 7.3.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ СТАНДАРТНЫХ РАСТВОРОВ ФЕНОЛФТАЛЕИНА И ПОСТРОЕНИЕ КАЛИБРОВОЧНОЙ КРИВОЙ

0,5 г фенолфталеина растворяют в 100 мл этанола, получают раствор 0,5 %-ной концентрации. Из стандартного раствора берут аликвоты, содержащие 0,1; 0,2; 0,5; 1,0; 2,0 и 5,0 мг фенолфталеина, переносят в мерные колбы емкостью 50 мл и доливают этанолом до метки. Получают таким образом серию рабочих растворов, 1 мл которых содержит 0,002; 0,004; 0,01; 0,02; 0,04 и 0,1 мг фенолфталеина, 5 мл рабочего раствора переносят в пробирку и добавляют 5 мл 10 %-ного раствора аммиака. Окрашенные растворы колориметрируют

Таблица 7.4

**Результаты измерения оптической плотности
рабочих растворов фенолфталеина**

Толщина кюветы, мм	Концентрация фенолфталеина, мг / 10 мл	Средняя оптиче- ская плотность
20	0,01	0,012
	0,02	0,022
	0,05	0,037
	0,1	0,065
	0,2	0,110
	0,5	0,227

на ФЭК с синим светофильтром. Окраска устойчива в течение 1 ч.

Результаты измерения оптической плотности окрашенных растворов фенолфталеина различных концентраций представлены в табл. 7.4, калибровочная кривая для кюветы толщиной 20 мм — на рис. 7.2. Линейная зависимость оптической плотности от концентрации растворов фенолфталеина наблюдается в интервале от 0,01 до 0,5 мг/10 мл.

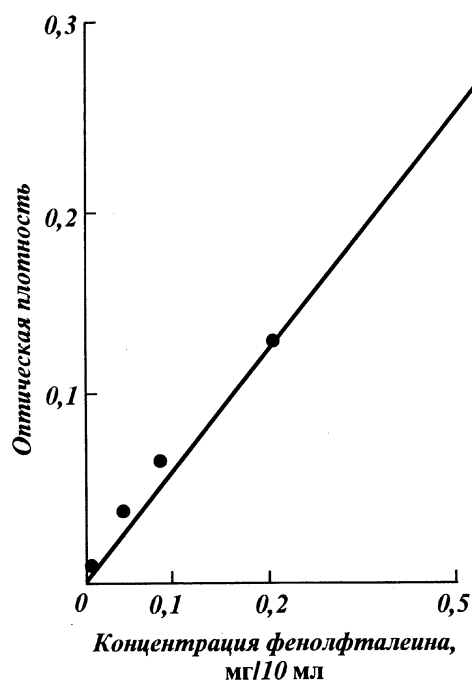


Рис. 7.2. Калибровочная кривая для определения концентрации фенолфталеина

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАБОЧИХ РАСТВОРОВ

0,1 %-ный раствор фенолфталеина. 100 мг фенолфталеина растворяют в 100 мл 60 %-ного этилового спирта. Раствор перемешивают.

1 %-ный раствор фенолфталеинфосфата натрия. 10 мл 10 %-ного раствора (торговый препарат) разбавляют дистиллированной водой до 80 мл, затем концентрированной соляной кислотой, разбавленной водой в отношении 1 : 2,5, доводят рН раствора до 7,0. Объем раствора доводят до 100 мл дистиллированной водой. Раствор готовят перед употреблением.

0,1 М CaCl_2 . 11 г обезвоженной соли CaCl_2 помещают в мерную колбу вместимостью 1 л, растворяют в небольшом объеме дистиллированной воды, доводят водой до метки и перемешивают.

10 %-ный раствор NH_4OH . 30 %-ный раствор аммиака разбавляют дистиллированной водой в 3 раза. Раствор хранят в холодильнике.

РЕАКТИВЫ

Фенолфталеин, индикатор, ч.д.а.

Фенолфталеинфосфат натрия (ФФФ Na) 10 %-ный раствор, ч., ТУ 6-09-2961.

Хлористый кальций CaCl_2 , х.ч., ГОСТ 4460–66.

Соляная кислота HCl , $\rho = 1,12 \text{ г/см}^3$, ГОСТ 3118–67, х.ч.

Аммиак NH_4OH 30 %, $\rho = 0,91 \text{ г/см}^3$, ч., ГОСТ 3760–64.

Этиловый спирт 60 %.

7.6. ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ УРЕАЗЫ (АУ)

Навеску почвы (1 г воздушно-сухой почвы, а влажной — с учетом влажности) помещают в пробирку и заливают 2 мл 2 %-ного раствора мочевины. Для контроля берут пробирку с такой же навеской почвы и добавляют к ней 2 мл дистиллированной воды. Пробирки закрывают резиновыми пробками, тщательно встряхивают и ставят в термостат на 3 ч при 30 °С. После инкубации в каждую пробирку доливают по 8 мл дистиллированной воды и для получения прозрачных растворов по две капли разведенной соляной кислоты (1 : 2).

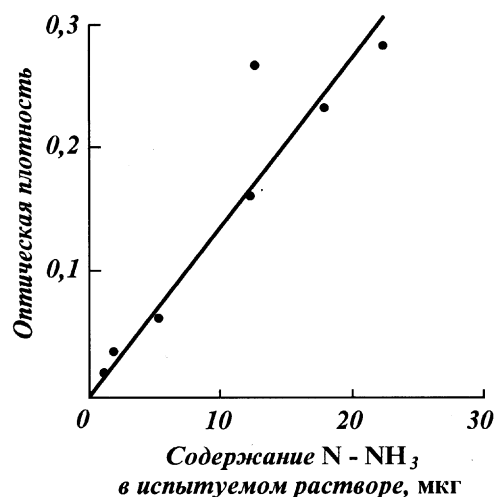


Рис. 7.3. Калибровочная кривая для определения концентрации N-NH₃

Суспензию взбалтывают и центрифугируют при частоте 3000 об/мин в течение 3 мин. Для определения количества аммиачного азота в реактивной смеси 1 мл центрифугата помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доливают водой примерно до 10 мл, затем прибавляют 4 мл раствора фенолята натрия и сразу же 3 мл раствора гидрохлорида натрия. После добавления каждого реактива смесь тщательно перемешивают. Через 20 мин объем смеси в колбе доводят до метки. Окрашенные в голубой цвет растворы колориметрируют на ФЭК с красным светофильтром. Окраска индофенола голубого устойчива в течение 1 ч.

Активность уреазы выражают в мг N-NH₃/(г · ч). Количество аммиачного азота находят по стандартной калибровочной кривой (рис. 7.3). Расчет количества аммиачного азота ведется по формуле

$$X = \frac{CV_1}{V_2aT1000}, \quad (7.10)$$

где X — количество аммиачного азота N-NH₃, мг; C — концентрация N-NH₃, найденная по калибровочной кривой; V_1 — количество раствора для приготовления почвенной вытяжки, мл, $V_1 = 10$ мл; V_2 — количество аликвоты, мл, $V_2 = 1$ мл; a — навеска почвы, г, $a = 1$ г; T — время инкубации, ч, $T = 3$ ч; 1000 — коэффициент для перевода мкг в мг.

Таблица 7.5

Пример записи результатов определения активности уреазы

Дата	Номер варианта	Толщина кюветы, мм	Показания ФЭК D	Количество N—NH ₃ , мг	АУ	Среднее значение АУ	Примечание
	1	20	0,209 0,208 0,205 0,211 0,080 0,086	0,05 0,05 0,05 0,05 0,02 0,02	0,03 0,03 0,03 0,03	0,03	

На основании закона Бера C можно вычислить по формуле (7.2).

Подставляя это выражение в формулу для вычисления количества аммиачного азота $N-NH_3$, получают

$$X = \frac{D10}{K_1 V_2 a T}. \quad (7.11)$$

При использовании кюветы толщиной 20 мм

$$X = \frac{D10}{0,013 \cdot 1 \cdot 3 \cdot 1000} = 0,26. \quad (7.12)$$

Активность уреазы равна разнице между опытными и контрольными значениями

$$\Delta I = I_0 - I_1.$$

Результаты фотоэлектроколориметрирования и вычисления АУ записывают по образцу, представленному в табл. 7.5.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ СТАНДАРТНОГО РАСТВОРА СЕРНОКИСЛОГО АММОНИЯ И ПОСТРОЕНИЕ КАЛИБРОВочНОЙ КРИВОЙ

0,4717 (NH₄)₂SO₄, высушенного до постоянной массы, помещают в мерную колбу емкостью 1000 мл, растворяют в дистиллированной воде и объем раствора доводят до метки.

Концентрация стандартного раствора равна 100 мкг N на 1 мл. Для приготовления рабочих растворов в мерные колбочки емкостью 100 мл отбирают 1, 2, 5, 8, 12, 15, 18, 22, 25 и 28 мл исходного раствора и доливают дистиллированной водой до метки. В 1 мл каждого раствора содержится соответственно 1, 2, 5, 8, 12, 15, 18 и 22 мкг N—NH₃.

1 мл рабочего раствора помещают в мерную колбу емкостью 50 мл, доводят объем дистиллированной водой до 10 мл, затем доливают 4 мл раствора фенолята натрия и сразу же

Таблица 7.6

**Результаты измерений оптической плотности
рабочих растворов $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$**

Толщина кюветы, мм	Концентрация N – NH_3 в мкг/50 мл	Средняя оптическая плотность
20	1	0,019
	2	0,036
	5	0,061
	8	0,104
	12	0,154
	15	0,199
	18	0,221
	22	0,270

3 мл раствора гидрохлорида натрия. После добавления каждого реактива смесь тщательно перемешивают. Через 20 мин объем смеси доводят до метки и интенсивность окраски просматривают на ФЭК с красным светофильтром, используя кювету толщиной 20 мм. Окраска индофенола голубого устойчива в течение 1 ч. Результаты измерений оптической плотности представлены в табл. 7.6, калибровочная кривая — на рис. 7.1. Линейная зависимость оптической плотности от концентрации N – NH_3 для кюветы толщиной 20 мм сохраняется в интервале от 1 до 22 мкг/50 мл.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАБОЧИХ РАСТВОРОВ

2 %-ный раствор мочевины. 2 г мочевины растворяют в 100 мл дистиллированной воды, перемешивают. Раствор готовят перед употреблением.

Раствор фенолята натрия. 62,5 г фенола растворяют в малом количестве этанола, добавляют 18,5 мл ацетона, этанолом доводят объем раствора до 100 мл, перемешивают (раствор А). 27 г NaOH растворяют в 100 мл дистиллированной воды (раствор Б). Оба раствора хранят в холодильнике. Перед употреблением по 20 мл растворов А и Б смешивают, объем доводят до 100 мл и перемешивают.

Раствор гипохлорита натрия. Исходный препарат разбавляют водой до концентрации активного хлора 0,9 %. К приготовленному исходному раствору гипохлорита натрия прибавляют дистиллированную воду в отношении 1 : 10. Раствор устойчив.

Разбавленная соляная кислота (1 : 2). К 20 мл дистиллированной воды осторожно доливают 10 мл концентрированной соляной кислоты, перемешивают.

РЕАКТИВЫ

Мочевина CH_4ON_2 , ч.д.а., ГОСТ 6691–67.

Фенол $\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$, ч., ГОСТ 6417–52.

Спирт этиловый ректификат (96,4 %), ГОСТ 18300–72.

Едкий натр NaOH , ч.д.а., ГОСТ 4328–66.

Соляная кислота HCl , $\rho = 1,12 \text{ г/см}^3$, х.ч., ГОСТ 3118–67.

Углекислый натрий безводный Na_2CO_3 , ч.д.а., ГОСТ 83–63.

Хлористая известь (имеющаяся в продаже).

Раствор гипохлорита натрия (натрий хлорноватисто-кислый NaClO) получают следующим образом. Тщательно размешивают 100 г хлорной извести с содержанием активного хлора 35–36 % с 170 мл дистиллированной воды в течение 15 мин и в смесь при непрерывном перемешивании вносят раствор Na_2CO_3 (70 г в 170 мл дистиллированной воды). Масса сначала густеет, затем опять разжижается. Жидкость отделяют от осадка фильтрованием через полотняный фильтр на воронке Бюхнера. Получается 320 мл раствора NaClO с содержанием активного хлора 71–100 г/л.

7.7. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИНТЕНСИВНОСТИ “ДЫХАНИЯ” ПОЧВЫ

Методика основана на измерении количества CO_2 , выделившегося из почвы за определенный промежуток времени, и состоит в следующем. Почву площадью 60–80 см^2 изолируют с помощью стеклянного или полиэтиленового сосуда, края которого заглубляют на 1,5–2 см. Внутри этого сосуда на пластмассовой подставке устанавливают стеклянную чашечку с 5 мл поглощающей щелочи и выдерживают 2 ч. В качестве поглотителя CO_2 , выделившегося из почвы, используют раствор 0,1 н. KOH .

Для определения количества углекислоты, содержащейся в воздухе сосуда-изолятора, такую же чашечку с 5 мл щелочи устанавливают на подставке в чашке Петри, заполненной слегка подкисленной водой, закрывают сосудом и выдерживают 2 ч.

Интенсивность выделения CO_2 почвой определяется по формуле

$$D = \frac{(a - b)2,2}{ST}, \quad (7.13)$$

где D — количество CO_2 , выделившегося из почвы, $\text{мг}/(\text{дм}^2 \cdot \text{ч})$; a — количество 0,1 н. HCl , которое потребовалось на титрование щелочи при определении содержания CO_2 в воздухе сосуда-изолятора, мл; b — количество 0,1 н. HCl , которое потребовалось на титрование щелочи в опыте, мл; S — площадь изолируемой поверхности, дм^2 ; T — время экспозиции; 2,2 — количество CO_2 , поглощаемое 1 мл 0,1 н. раствора щелочи, мг .

Например, при экспозиции в течение 2 ч на титрование 5 мл щелочи при определении содержания CO_2 в воздухе сосуда-изолятора потребовалось 4,92 мл 0,1 н. HCl , а на титрование щелочи в опытном варианте — 4,92 мл 0,1 н. HCl . Тогда интенсивность выделения CO_2 из почвы площадью 0,665 дм^2 за 2 ч, поглощенного 5 мл щелочи,

$$D = \frac{(4,92 - 4,42)2,2}{0,665 \cdot 2} = 0,93 \text{ мг } \text{CO}_2/(\text{дм}^2 \cdot \text{ч}). \quad (7.14)$$

Чем больше поглотилось углекислоты щелочью, тем меньшее количество 0,1 н. HCl пойдет на ее титрование, так как часть щелочи уже будет нейтрализована углекислотой.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАБОЧИХ РАСТВОРОВ

0,1 н. раствор КОН. Раствор готовят из фиксанала, тщательно перенося его содержимое в мерную колбу вместимостью 1 л; ампулу, боек и воронку при этом тщательно ополаскивают дистиллированной водой. Объем раствора в колбе доводят до метки. Приготовленный раствор щелочи хранят в холодильнике с хлоркальциевой трубкой.

0,1 н. раствор HCl . Раствор готовится из фиксанала.

1 %-ный раствор фенолфталеина. 1 г фенолфталеина растворяют в 100 мл этилового спирта (60 %).

РЕАКТИВЫ

Фиксанал щелочи (0,1 н. KOH).

Фиксанал кислоты (0,1 н. HCl).

Фенолфталеин: индикатор, ч.д.а.

Спирт этиловый 60 %.