

**МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

ФГБОУ ВО Пензенская ГСХА

Н.П. Чекаев, В.Н. Эркаев

**ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ
ИССЛЕДОВАНИЙ**



Пенза 2016

**МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

ФГБОУ ВО Пензенская ГСХА

Кафедра почвоведения и агрохимии

Н.П. Чекаев, В.Н. Эркаев

**ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ
ИССЛЕДОВАНИЙ**

Учебное пособие
для студентов, обучающихся
по направлениям 35.04.03 Агрохимия и агропочвоведение
и 35.04.04 Агрономия
(уровень магистратуры)

Пенза 2016

УДК 631.41(075)

ББК 40.3(я7)

Ч-37

Рецензент – кандидат сельскохозяйственных наук, доцент кафедры «Общее земледелие и землеустройство» ФГБОУ ВО Пензенская ГСХА Н.Н. Тихонов

Печатается по решению методической комиссии агрономического факультета от октября 2016 г., протокол № .

Чекаев, Н.П.

Ч-37 Инструментальные методы исследований: учебное пособие / Н.П. Чекаев, В.Н. Эркаев. – Пенза: РИО ПГСХА, 2016. – 191 с.

Учебное пособие составлено в соответствии с рабочей программой дисциплины «Инструментальные методы исследований» для студентов, обучающихся по направлениям: 35.04.03 Агрохимия и агропочвоведение и 35.04.04 Агрономия (уровень магистратуры). В пособии описываются инструментальные методы анализа почв, растений, минеральных и органических удобрений, применяемые в практике агрохимических исследований. Настоящее учебное пособие носит энциклопедический характер и рекомендуется для широкого использования не только при подготовке студентов соответствующего профиля в высших учебных заведениях, но и в научно-исследовательских учреждениях, в подразделениях системы агрохимслужбы, при организации агрохимических лабораторий в связи с обслуживанием различных форм многоукладного сельского хозяйства.

© ФГБОУ ВО Пензенская ГСХА, 2016

© Чекаев Н.П.,

Эркаев В.Н., 2016

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
1 АГРОХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	9
1.1 МЕТОДИКА ПОЛЕВОГО ОПЫТА.....	9
1.1.1 Основные понятия, встречающиеся в методике полевого опыта.....	10
1.1.2 Выбор участка.....	14
1.1.3 Размещение опыта на участке.....	20
1.1.4 Закладка опыта.....	28
1.1.5 Уход за растениями и сопутствующие наблюдения в течение вегетационного периода.....	34
1.1.6 Учет результатов опыта.....	34
1.2 ВЕГЕТАЦИОННЫЙ МЕТОД.....	37
1.2.1 Питательные смеси для водных и песчаных культур растений.....	37
1.2.2 Техника постановки водных культур.....	44
1.2.3 Техника постановки песчаных культур.....	51
1.2.4 Техника постановки почвенных культур.....	56
1.3 ЛИЗИМЕТРИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	62
2 ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВА- НИЙ.....	71
2.1 ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ И ДИАГНОСТИКИ В ИССЛЕДОВАНИЯХ ПОЧВ И РАСТЕНИЙ.....	71
2.1.1 Физико-химические методы концентрирования и разде- ления веществ.....	76
2.1.2 Оптические методы анализа.....	79
2.1.3 Электрохимические методы анализа.....	85
2.1.4 Масс-спектрометрия.....	97
2.1.5 Электронный парамагнитный резонанс (ЭПР).....	98
2.1.6 Хроматографические методы анализа.....	99
2.1.7 Радиометрические методы анализа.....	115
2.2 ДИАГНОСТИКА ГУМУСОВОГО СОСТОЯНИЯ ПОЧВ.....	118
2.3 БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	131
2.3.1 Методы биоиндикации и биотестирования.....	133
2.3.2 Микроорганизмы как аналитические индикаторы.....	138

2.3.3	Использование беспозвоночных в качестве индикаторных организмов.....	142
2.3.4	Использование позвоночных для определения микроколичеств элементов.....	143
2.4	МЕТОДЫ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ ПОЧВЫ.....	145
2.4.1	Санитарно-бактериологические показатели почвы и их нормирование.....	145
2.4.2	Отбор проб для бактериологического анализа.....	147
2.4.3	Подготовка и обработка почвы для анализа.....	150
2.4.4	Определение общих колиформных бактерий (БГКП).....	152
2.4.5	Определение энтерококков.....	156
2.4.6	Определение <i>CL perfringens</i> в почве.....	159
2.4.7	Показатели биологической активности почвы.....	160
2.4.8	Определение патогенных энтеробактерий родов <i>Salmonella</i> и <i>Shigella</i> в 1 г почвы.....	165
	СЛОВАРЬ ТЕРМИНОВ И ПОНЯТИЙ.....	167
	ЛИТЕРАТУРА.....	190

ВВЕДЕНИЕ

Применение современных инструментальных методов в почвенно-аналитической практике получило широкое распространение в изучении состава почв и их свойств. Одной из особенностей физико-химических методов анализа является то, что показатели, характеризующие свойства вещества или системы в обычных условиях, не зависят от взятого объема вещества. Это в свою очередь вносит ряд принципов в технику работы по сравнению с обычными химическими методами и частично позволяет упростить процедуру исследования. Большое преимущество и особенность физико-химических методов состоит в том, что во многих случаях они позволяют изучить состав, строение и свойства почв, не производя с ними никаких химических операций. Одним методом можно определить сразу несколько и даже десятки элементов. Возможность работы с ненарушенными образцами имеет значение в двух аспектах. Во-первых, с помощью этого приема получают информацию об истинном состоянии почвы и ее компонентов. Во-вторых, именно такие методы позволяют осуществлять дистанционные измерения как с помощью постоянно погруженных в почву датчиков, так и путем измерения спектров отражения почв с помощью приборов, установленных на самолетах или искусственных спутниках.

Таким образом, современные физико-химические методы анализа имеют большое значение в познании состава, химических свойств и генезиса почв. Эти методы позволяют достаточно быстро получать точные результаты.

Физико-химический анализ объединяет большое число методов, основанных на измерении различных физических свойств соединений или простых веществ с использованием соответствующих приборов. К таким свойствам относятся: плотность, поверхностное натяжение, вязкость, поглощение лучистой энергии (рентгеновских лучей, ультрафиолетового, видимого, инфракрасного излучений и микроволн), помутнение, излучение (в результате возбуждения), комбинационное рассеяние света, показатель преломления, дисперсия, флуоресценция и фосфоресценция, дифракция рентгеновских лучей и электро-

литов и др.

Одной из основных задач физико-химического анализа является изучение соотношений между составом и свойствами химически равновесных систем, какой и является почва.

К достоинствам современных инструментальных методов следует отнести высокую чувствительность и скорость выполнения анализа (в том числе возможность анализа твердых почвенных проб без предварительного их разложения), возможность одновременного определения нескольких показателей. Возможность работы в автоматическом режиме без присутствия оператора.

Недостатки сводятся к следующему: сложное и дорогостоящее оборудование и расходные материалы, необходимость наличия квалифицированного обслуживающего персонала, более низкая воспроизводимость результатов.

Кроме чисто химических и чисто инструментальных методов, существуют и комбинированные методы, объединяющие в себе преимущества и тех, и других. Например, существуют установки для кислотно-основного титрования с фиксацией точки эквивалентности потенциометрическим методом, автоматизированные установки для определения содержания азота по Кьельдалю и т.д.

Вместе с тем, при использовании инструментальных методов нельзя обойтись без стандартных образцов или растворов, при приготовлении которых может использоваться титриметрический или гравиметрический анализ. В повседневной лабораторной практике для решения разных задач обычно используют обе группы аналитических методов, в каждом конкретном случае применяя метод, лучше подходящий для поставленной задачи.

В современных научных исследованиях в области агрономии используется широкий набор методов исследования, в числе которых центральное место занимает большая группа аналитических методов – инструментальные или физико-химические методы. Эти методы имеют большие преимущества по сравнению с классическими химическими методами, поэтому они широко используются на производстве в почвенно-аналитической практике.

В результате освоения дисциплины магистр должен **знать:**

- теоретические основы инструментальных методов исследования;
- сущность современных методов исследования почв и растений;
- инструментальное обеспечение современных методов исследований;
- методику подготовки почвенных, растительных образцов и анализа;
- устройство современных аналитических приборов;
- возможности и недостатки изучаемых методов.

Уметь:

- выбирать метод исследования;
- осуществлять пробоподготовку;
- проводить агрофизические, агрохимические и биологические анализы образцов почв и растений;
- работать с современными аналитическими приборами;
- обрабатывать полученную информацию и оценивать ее достоверности.

Владеть опытом:

- анализа почвенного, агрохимического и экологического состояния агроландшафтов по материалам обследования;
- обработки результатов анализов и систематизировать материалы агроэкологического мониторинга.

Процесс изучения дисциплины «Инструментальные методы исследований» направлен на формирование следующих компетенций:

способности ставить задачи, выбирать методы научных исследований (ПК-1);

владением физическими, химическими и биологическими методами оценки почвенного плодородия и качества сельскохозяйственной продукции (ПК-2);

способности самостоятельно выполнять научные исследования с использованием современных методов и технологий (ПК-3);

готовности применять разнообразные методологические подходы к проектированию агротехнологий и регулированию агроэкосистем, оптимизации почвенных условий, систем применения удобрений для различных сельскохозяйственных культур

(ПК-6).

В учебном пособии «Инструментальные методы исследований» приведены основы теории современных инструментальных методов, рассмотрены конструктивные узлы приборов и оборудования и их эксплуатация при анализе почв и растений.

1 АГРОХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

1.1 МЕТОДИКА ПОЛЕВОГО ОПЫТА

Полевой опыт – это метод исследования, проводимого в природной полевой обстановке на специально выделенном участке с целью установления количественного воздействия условий или приемов возделывания на урожай сельскохозяйственных растений и его качество.

Полевой опыт дает количественную, приложимую к производственным условиям характеристику эффективности действия удобрения. Поэтому он справедливо рассматривается как конечное звено в системе агрохимических исследований.

В зависимости от цели, места постановки, длительности опыта и размера делянок полевой опыт делится на несколько видов.

В зависимости от длительности периода наблюдений за действием удобрений различают однолетние и многолетние, или длительные, полевые опыты. В однолетних опытах учитывается действие удобрения только на ту культуру, под которую оно внесено. Многолетние опыты, как правило, ведутся в определенном севообороте. Опыт, закладываемый в течение нескольких лет каждый год на новом участке, но учитываемый на каждом участке только один раз, нужно считать все же однолетним опытом. Опыт, учитываемый в течение ряда лет на одном участке, лишь при чередовании на нем культур должен считаться многолетним, хотя и неудовлетворительно организованным с точки зрения методики.

В зависимости от размера делянки различаются крупноделяночные и мелкоделяночные опыты. Существенной для этого подразделения является, однако, не величина делянок, а возможность применения нормальной полевой агротехники. Мы относим к мелкоделяночным опыты с таким малым размером делянок, который не позволяет поставить изучаемый фактор в условия нормальной сопутствующей агротехники и заставляет прибегать к искусственным приемам, которые могут существенно изменить высоту урожая и эффективность изучаемого фактора. Все опыты, проводимые с соблюдением нормальных приемов поле-

вой агротехники, мы относим к обычным, или нормальным, полевым опытам независимо от абсолютных размеров делянки.

В зависимости от количества изучаемых факторов полевые опыты подразделяют на *однофакторные* и *многофакторные*. Если в опыте изучается один простой или сложный (составной) количественный фактор в нескольких градациях (дозы удобрения, пестицида, нормы посева, полива и т.п.) или сравнительное действие ряда качественных факторов (разные культуры, сорта, способы обработки, предшественники и т.п.), то такой эксперимент называется простым, или *однофакторным*.

Опыты, в которых одновременно изучается действие и устанавливается характер и величина взаимодействия двух и более факторов, называются *многофакторными*. Установить величину и характер взаимодействия позволяют лишь те полевые опыты, которые спланированы по схеме полного факториального эксперимента (ПФЭ), которая предусматривает наличие всех возможных сочетаний изучаемых факторов и их градаций (доз). Многофакторный эксперимент по полной факториальной схеме, в котором изучаются два фактора в двух градациях ($2 \times 2 = 4$), например глубокая обработка почвы и удобрение, должен иметь 4 варианта:

1. Обычная обработка без удобрений (контроль).
2. Глубокая обработка без удобрений.
3. Обычная обработка + удобрение.
4. Глубокая обработка + удобрение.

При исключении из этого опыта любого второстепенного, по мнению исследователя, варианта схема становится неполной, нефакториальной.

1.1.1 Основные понятия, встречающиеся в методике полевого опыта

Схема полевого опыта – совокупность определенного числа вариантов. Каждый из них характеризуется видоизменением того фактора, который изучается в данном опыте. Примером простейшей схемы опыта может быть схема их двух вариантов, например первый вариант - без удобрений, второй - с удобрением. Для изучения действия трех видов минеральных удобрений

обычно рекомендуют классическую схему, так называемую восьмерную, предложенную французским ученым Жоржем Виллем: 1)0; 2)N; 3)P; 4)K; 5)NP; 6)NK; 7)PK; 8)NPK. В ней наиболее полно сочетаются все возможные комбинации из трех видов удобрений, но эту схему можно трактовать и гораздо шире. Вместо трех видов минеральных удобрений по этому принципу можно построить схему, включающую изучение любых трех факторов, например глубокой вспашки, удобрения и полива. Поскольку чаще всего в практике применяется сразу несколько удобрений, используется пятерная схема: 1)0; 2)NP; 3)NK; 4)PK; 5)NPK. Эта схема называется схемой Вагнера, в ней действие любого вида удобрений испытывается только на фоне двух других.

Вариант опыта – определенная совокупность приемов возделывания растений, осуществляемая на одной делянке или на нескольких, так называемых повторных делянках. Вариант есть составная часть схемы опыта, обозначаемая тем фактором, который изучается в опыте. Один из вариантов схемы опыта, с которым сравнивают результаты, полученные в других вариантах, называется *контрольным* (стандартным) или *контролем*. Он позволяет определить степень чувствительности растений к изучаемому в опыте фактору. Варианты опыта размещаются на делянках опытного участка по определенному плану.

Опытная делянка – элементарная составная часть опытного участка определенного размера и формы, на которой осуществляются все изучаемые приемы возделывания растений согласно какому-нибудь одному из вариантов схемы опыта.

Каждый из вариантов схемы принято размещать повторно на нескольких делянках, отсюда возникает понятие «повторность».

Повторностью опыта в пространстве – называют число одноименных делянок каждого варианта. Часть площади опытного участка, занятую полным набором делянок всех вариантов схемы опыта, расположенных рядом друг с другом, называют повторением опыта.

Блок – часть площади участка полевого опыта, поделенного на делянки, на котором размещают варианты схемы опыта случайными методами. Блок может быть полным, тогда он равен повторению, или неполным - когда в блок входит лишь

часть вариантов, в последнем случае несколько блоков составляют одно повторение.

Основные методические требования к качеству полевого опыта. К любому полевому опыту предъявляется ряд основных методических требований: 1) наличие сравнимости и соблюдение принципа единственного различия; 2) типичность опыта; 3) точность количественных результатов опыта; 4) достоверность.

Наличие сравнимости и соблюдение принципа единственного различия – одно из требований методики полевого опыта, которое следует учитывать при разработке программы и построении схемы полевого опыта. Программа и схемы должны быть составлены так, чтобы на основании сравнения урожаев и наблюдений за развитием растений на делянках различных вариантов можно было сделать определенный вывод, получить ответ на поставленный вопрос, имеющий практическое значение для сельскохозяйственного производства.

Одним из условий методически правильно поставленного опыта является соблюдение принципа единственного логического различия, т.е. требования, чтобы сравниваемые варианты различались одним изучаемым в опыте фактором. Другие факторы, оказывающие влияние на урожай, у сравниваемых вариантов должны быть одинаковыми. Так, при изучении действий удобрений необходимо, чтобы обработка почвы на всех делянках опыта была одинаковой, посев проведен в один срок семенным материалом одинакового качества, чтобы на всех делянках применялась одна и та же система ухода за растениями и т.д. Цель этого требования – обеспечить сравнимость данных, полученных в разных вариантах опыта, например для суждения об эффективности удобрений.

В опытах с удобрениями соблюдение принципа единственного различия требует не только чтобы все остальные факторы жизни растений и приемы агротехники были одинаковыми, но и чтобы разные формы удобрений испытывались при одинаковых дозах, эффективность различных доз какого-либо удобрения изучалась в одной и той же форме.

Требование *типичности*, или, как иногда говорят, репрезентативности, *опыта* включает соответствие условий проведения опыта той окружающей обстановке, где предполагается ис-

пользовать его результаты. Различают типичность опыта в отношении природных, а также организационно-хозяйственных, агротехнических условий. Требование природной типичности заключается в соответствии условий проведения опыта почвенным и климатическим условиям района или хозяйства, для которого предназначаются результаты опыта.

В опытах с удобрениями надо особенно тщательно выбирать соответствующий фон, от которого зависит эффективность удобрений. Иногда следует создавать два или несколько фонов (без навоза и с навозом, без известкования и по фону извести и т.д.). В понятие типичности входит также пригодность фона для исследования того или иного вопроса. Неверным и нетипичным будет изучение эффективности фосфоритной муки на почве, незадолго до этого произвесткованной.

Большое значение имеет закладка опыта по лучшим и типичным для данной культуры предшественникам (пласт для льна и яровой пшеницы, пары чистые или занятые для озимых и т.д.). Не менее важную роль в отношении типичности для опытов с удобрениями играет выбор типичных для данной зоны (района) культур, а также районированных сортов.

Точность количественных результатов – обязательное требование к качеству полевого опыта. Результат его всегда выражается количественно и служит объективным показателем эффективности изучаемого в опыте приема или фактора. Большинство агротехнических приемов и факторов, кроме влияния на величину урожая, оказывает также определенное действие на его качество (например, содержание белка в зерне, крахмала в клубнях картофеля, сахара в сахарной свекле). Оно может быть установлено химическим анализом урожаев с разных вариантов и сравнением полученных результатов, как и при определении различий в величине урожаев.

Наиболее существенная причина ошибок в полевом опыте – невыравненность исходного почвенного плодородия опытного участка, которая обусловлена пестротой в распределении почвенных разновидностей, влиянием рельефа и микрорельефа участка, а также неодинаковой предшествующей историей участка (обработка, удобрение, посев разных сельскохозяйственных культур).

Выбор формы и величины делянок, их расположения, а также необходимой в опыте повторности направлен главным образом на максимальное снижение ошибки, обусловленной исходной пестротой в почвенном плодородии опытного участка.

Полевой опыт должен также отвечать требованиям *достоверности*. Достоверность и точность опыта – понятия, тесно связанные между собой, но не идентичные. Принято различать достоверность полевого опыта по существу, т.е. соответствие опыта поставленным задачам исследования. Кроме того, различают понятие достоверности, или существенности, результатов полевого опыта.

Для оценки достоверности полевого опыта по существу проводят агрономический анализ его материалов, т.е. критический разбор и проверку правильности схемы полевого опыта, данных сопутствующих наблюдений и исследований, результатов учета урожая. Проверяют соответствие методики опыта задачам исследования, тщательно анализируют методику и технику проведения полевого опыта.

Если полевой опыт проведен методически и технически доброкачественно и нет оснований для выбраковки полученных в нем данных, результаты его подвергают математической обработке для установления величины случайной ошибки и степени точности, а также достоверности, или существенности, полученных результатов. Под существенностью результатов понимают математическую (статистическую) доказанность получаемой в опыте разницы в урожаях сравниваемых между собой вариантов опыта. Статистическая обработка результатов полевого опыта позволяет определить границы возможных случайных отклонений полученных данных и установить наличие существенных различий между средними урожаями по вариантам опыта.

1.1.2 Выбор участка

Рельеф. Наличие ровной поверхности – одно из основных условий пригодности участка для опыта. При постановке опытов на склоне делянки, расположенные в различных частях склона, попадают в неодинаковые почвенные условия и условия увлажнения. При значительном склоне возможен, кроме того, смыв

почвы и внесенных удобрений с верхних делянок на нижние. Особенно недопустима постановка многолетних опытов с озимыми на склонах, подвергающихся действию весенних вод. Однако выбор идеально плоского горизонтального участка сколь угодно значительной площади возможен лишь в условиях степи. В северной части России наличие той или иной степени склона типично для очень значительной части пахотных площадей. Идеально ровная поверхность встречается здесь почти исключительно на осушенных болотах. Поэтому не только трудность выбора участка, не имеющего склона, но и соображения типичности заставляют допускать здесь наличие на опытном участке умеренного склона (2,5 м падения на 100 погонных метров). Однако этот склон должен быть односторонним и равномерным. Недопустимо расположение в пределах участка опыта склонов, обращенных к различным странам света, резких изменений крутизны склона и особенно наличие замкнутых понижений (западин, блюдец).

При расположении опытного участка на склоне делянки вытягиваются длинными сторонами вдоль склона, с тем чтобы каждая делянка по возможности полно и одинаково с другими охватывала разнообразие условий в разных частях склона. Эти требования к рельефу не относятся, конечно, к тем случаям, когда влияние рельефа само собой является предметом изучения в опыте (опыты по изучению влияния склонов различной крутизны и экспозиции, опыты по изучению влияния эрозии и т.п.).

Почва. Почвенное обследование опытного участка может иметь двойную задачу: а) дать почвенную характеристику участка в целом для того, чтобы сделать возможным перенесение результатов опыта на сходные почвы; б) помочь наилучшим образом расположить опыт, расположив его целиком в пределах одной почвенной разности или при невозможности этого, в пределах комплекса наиболее близких разностей при условии возможного однообразия этого комплекса для всех вариантов опыта.

Первая задача обязательна не только в условиях опытного поля, но и при постановке опытов в условиях производства. Результаты тщательнейшим образом проведенного опыта теряют ценность, если неизвестна почва, на которой он был поставлен.

Детализация почвенной карты, необходимая для разрешения второй задачи, зависит от пестроты почвенного покрова и

размера делянок, но во всяком случае должна быть очень велика. Ошибки в нанесении почвенных разностей на такой карте не должны превышать наименьшего измерения (т.е. ширины) делянок, что требует почвенного обследования в масштабе 10–50 м в 1 см, осуществимого обычно лишь в опытных полях.

При необходимости закладки опыта на комплексе хотя бы и близких почв следует так расположить делянки (вытянутой формы), чтобы каждая из них охватывала весь комплекс почвенных разностей, представленных в пределах размещения опыта.

Предшествующая история. Севооборот, система обработки и особенно степень предшествующей заправки навозом и минеральными удобрениями определяют типичность опытного участка для обслуживаемого района в не меньшей степени, чем природные условия. Большое значение имеет предшествующая история также и в отношении однородности опытного участка.

Наибольшее значение имеет неоднородность предшествующей истории при постановке опытов в производственных условиях, где выбор участка обычно непосредственно предшествует закладке опыта и участок не подвергается никакой специальной подготовке. В этих условиях непременным требованием к участку является однородность обработки, удобрения и предшествующих культур по крайней мере за 2–3 года, а еще лучше - за последнюю ротацию севооборота. Важную роль для неоднородности и типичности участка играет строгая однообразность в проведении таких приемов агротехники, которые резко изменяют плодородие почвы и обладают длительным и значительным последствием. К ним относятся: известкование и гипсование; заправка почвы навозом; применение повышенных доз минеральных удобрений, особенно фосфорных; посевы многолетних бобовых трав; углубление пахотного слоя.

Последствие всех этих приемов, конечно, рано или поздно затухает. Однако длительность этого последствия во всяком случае превышает 2–3 года, а в некоторых случаях (например, при известковании) может растягиваться на десятилетия. Поэтому при наличии сведений о применении одного из этих приемов на какой-то части участка нельзя использовать его под закладку опыта без предварительного подробного учета, хотя бы со времени применения этого приема и прошло более 2 лет.

При изучении истории участка следует также обращать внимание на *случайные факторы*, которые сильно нарушают его однородность и снижают точность результатов будущего опыта. На участке не должно быть следов земляных работ, засыпанных ям и канав, раскорчевок и крупных пней, остатков от строений, бывших токов, стоянок скота, мест вывозки и хранения навоза, бывших грунтовых дорог. Не следует располагать опытный участок вблизи водоемов, древесных насаждений, построек, изгородей, которые создают неравномерность освещения вследствие затенения, неодинаковые условия влажности почвы и воздуха ветра, а также возможности повреждения и засорения опыта.

Участок должен находиться на расстоянии не менее 200 м от водоемов, 40–50 м от сплошного леса и отдельных построек, 25–30 м от отдельных деревьев и 10 м от плотных изгородей. Во избежание повреждения опыта и влияния на него дорожной пыли участок размещают на расстоянии 10–20 м от проезжей дороги и изолируют засеянной защитной полосой.

Подготовка участка включает две самостоятельные задачи: выравнивание неодинакового плодородия участка при помощи одного или нескольких сплошных по всему участку, так называемых уравнительных посевов и изучение распределения на площади участка исходной пестроты почвенного плодородия путем подробного учета рекогносцировочных или разведочных посевов.

Уравнительные посевы. Кроме выравнивания пестроты участка, уравнительные посевы могут иметь еще одну важную, но обычно забываемую задачу – доведение плодородия и окультуренности участка до заданного уровня. При исключительном значении, придаваемом в опытах с удобрениями фону, на котором они проводятся, очень часто возникает необходимость искусственного создания или изменения этого фона как в сторону повышения окультуренности, так иногда и в сторону некоторого понижения исходного плодородия.

Для достижения этих целей подготовительные посевы, являющиеся в то же время и уравнительными, могут продолжаться несколько лет и включать самые разнообразные культуры. Возможно создание специальных подготовительных севооборотов или звеньев севооборота. В этих севооборотах могут вноситься в зависимости от исходного и создаваемого уровня плодородия

навоз или минеральные удобрения или, наоборот, севообороты могут проводиться в течение ряда лет без всякого удобрения.

Систематический и тщательный осмотр уравнильных посевов дает возможность провести глазомерную оценку пестроты в развитии растений, выделить для опыта наиболее выровненную часть опытного участка и исключить из него те места, которые отличаются большой пестротой. В некоторых случаях, когда этого требуют условия проведения опыта, последний уравнильный посев можно совместить с рекогносцировочным, подвергнув его подробному учету.

Некоторые случаи специальной подготовки участка. Помимо перечисленных общих приемов подготовки участков для опыта, возможны некоторые специальные приемы подготовки, связанные с задачами опыта или с особенностями самого участка. Так, в опытах с орошаемыми культурами необходимым приемом является планировка участка, обеспечивающая равномерность орошения делянок и возможность тщательной регулировки и учета распределения воды между делянками.

Так как планировка, т.е. снятие части пахотного слоя в одних местах и подсыпка в других, сама по себе служит источником пестроты плодородия, особенно в первые годы после ее осуществления, то дополнительным требованием при выборе участка для опытов с орошаемыми культурами является рельеф, позволяющий ограничиться минимальной планировкой.

Рекогносцировочные посевы и подробный учет. Сущность подробного учета заключается в том, что участок засеивается сплошь какой-либо культурой, которая учитывается по отдельным, возможно, более мелким, площадкам. Таким образом, устанавливается пестрота плодородия внутри опытного участка.

Для рекогносцировочного посева чаще всего используют зерновые хлеба, иногда картофель или корнеплоды. Из зерновых удобнее для подробного учета яровые культуры (овес), так как на пестроту стояния озимых накладываются, помимо плодородия почвы, условия перезимовки.

Величина элементарных делянок подробного учета зависит от культуры. При небольших площадях, подлежащих учету, и значительной пестроте участка можно рекомендовать размер элементарной делянки в 10 м². При более крупных и более однород-

ных площадях можно допустить и более крупные делянки дробного учета.

Использование данных дробного учета может идти по нескольким путям. Прежде всего, непосредственные результаты взвешивания наносят на план. Для этого весь цифровой материал разбивают на группы с интервалами 0,5–1,0 кг и для каждой группы подбирают определенную интенсивность окраски (обычно более темную с повышением урожая), которой и закрашивают на плане каждую ячейку, соответствующую элементарной делянке. Такой план позволяет довольно хорошо ориентироваться в характере пестроты участка и выделить в его пределах более однородные площадки и, наоборот, выключить резко отличающиеся пятна.

Следующая стадия работы заключается в чисто эмпирическом комбинировании элементарных делянок по две, три и т.д. и суммировании их урожаев с тем, чтобы подобрать размер и форму опытной делянки, при которых в наибольшей степени погасалась бы пестрота элементарных делянок.

Одновременно производят математическую обработку материала, устанавливающую среднюю квадратическую ошибку для элементарной делянки и для комбинированных делянок разной величины.

Исходя из того, что средняя ошибка m прямо пропорциональна величине квадратического отклонения δ и обратно пропорциональна корню квадратному из числа повторений n .

$$m = \frac{\delta}{\sqrt{n}},$$

вычисляют число повторений, необходимое для того, чтобы ошибка опыта при данном размере делянок не превосходила заданной величины:

$$n = \left(\frac{\delta}{m} \right)^2$$

Все эти предварительные вычисления позволяют при минимальной затрате площади заложить опыт с заранее определенной точностью.

1.1.3 Размещение опыта на участке

Основной задачей размещения опыта на участке является возможное уменьшение различий в исходном плодородии сравниваемых делянок, вызванное пестротой участка.

Величина делянки. Повышение точности опыта (уменьшение ошибки) с увеличением площади делянки идет не пропорционально этому увеличению, а постепенно затухая. За известным пределом увеличение площади делянки может привести к понижению точности.

Дело в том, что увеличение площади каждой делянки означает и увеличение площади, занимаемой опытом в целом. До тех пор, пока весь опыт остается в пределах однородной площадки, одного пятна пестроты второго порядка, точность опыта с увеличением площади делянки повышается. Но как только общая площадь опыта выходит за пределы однородной площадки, точность его резко падает. Таким образом, максимальный размер делянки ограничивается необходимостью уложить весь опыт в пределах однородной площадки второго порядка.

На основе многолетней практики опытных учреждений рекомендовать можно средние размеры делянок 50–100 м² для растений сплошного посева и 100–200 м² для пропашных культур. От этих величин могут быть отклонения. В опытах с отдельной обработкой и посевом каждой делянки, с техникой внесения удобрений площадь делянки увеличивается до 300 м², иногда и больше. В многолетних опытах рекомендуются делянки от 200 до 300 м². В лабораторно-полевых опытах, где соблюдение типичности в производственном отношении необязательно, при применении конной обработки для культур сплошного посева размер делянки может быть 20–25 м², а при ручной обработке и еще меньшим.

Отсутствие специальных малогабаритных машин и орудий заставляет увеличивать делянки, что нежелательно, так как снижается качество работы. Указанные выше размеры примерные, они требуют уточнения в каждом отдельном случае.

Форма делянки. Точность опыта может быть также повышена в результате правильного выбора формы делянки. Наилучшую для данного участка форму делянки можно определить непосредственно, комбинируя данные дробного (участка) учета.

Вытянутая форма делянки обеспечивает обычно большую точность опыта, так как чем длиннее делянка, тем полнее она охватывает пестроту участка. Особенно необходимы вытянутые делянки при наличии явно выраженного изменения плодородия участка в каком-либо одном направлении.

Недостаток делянок вытянутой формы. У которых соотношение длины к ширине более 10 - их большой периметр. Чем он больше, тем сильнее сказывается влияние края и соседей на результаты; отсюда возникает необходимость обязательного введения защитных полос. Площадь их значительно больше на узких длинных делянках, поэтому при ограниченной площади участка и малых размерах делянок (меньше 50 м²) им следует придавать форму, близкую к квадрату, а повышения точности опыта добиваться увеличением повторности.

Повторность. Наиболее действенным способом повышения точности опыта является введение нескольких повторных делянок для каждого варианта схемы. Повторные делянки можно рассматривать как части одной более крупной делянки, но размещенные в различных местах опытного участка.

Наличие нескольких параллельных делянок для каждого варианта опыта не только повышает его точность, но и дает возможность количественно определить эту точность (вычислить величину ошибки). Повторность одноименных делянок нужно считать обязательной для всякого полевого опыта.

В стационарных условиях, как правило, полевые опыты не закладывают с повторностью меньше чем четырехкратная. Большинство полевых опытов при размерах делянок 50–100 м², а иногда и больше ставят в четырехкратной, реже в шестикратной повторности; это дает возможность иметь точность опыта около 2–4%. При постановке опытов на делянках 20–10 м² повторность повышают до 6–8-кратной. Минимальная повторность двухкратная. Ее недостатком, даже когда она обеспечивает необходимую точность опыта, является риск выпадения одной делянки по случайным причинам, что ведет к выбраковке из опыта всего варианта.

Общее расположение опыта. В полевых опытах с удобрениями чаще всего все повторения располагают компактно на одном участке, имея общие границы между отдельными повторе-

ниями. Такое расположение повторений носит название *сплошного*. При сплошном расположении повторения опыта могут быть размещены на участке в один, два и несколько рядов (рисунок 1).

1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
<i>I</i>				<i>II</i>				<i>III</i>				<i>IV</i>			

a

1	2	3	4	1	2	3	4
3	4	1	2	3	4	1	2
<i>I</i>		<i>II</i>		<i>III</i>		<i>IV</i>	

б

1	2	3	4	5	6	7	8	<i>I</i>
7	8	1	2	3	4	5	6	<i>II</i>
5	6	7	8	1	2	3	4	<i>III</i>
4	3	5	6	7	8	1	2	<i>IV</i>

в

Рисунок 1 – Схемы систематического размещения вариантов и повторений в опытах

a – однорядное последовательное; *б* – двухрядное; *в* – многорядное ступенчатое расположение. 1-8 – номера вариантов; I-IV – повторения.

Систематическое расположение вариантов на делянках внутри повторений, при котором предусматривается возможно равномерное размещение одноименных вариантов по всему опытному участку, предполагает расположение вариантов в определенном, заранее установленном экспериментальном порядке. При однорядном размещении повторений наиболее распространено последовательное расположение вариантов, при котором установленный порядок размещения вариантов на делянках первого повторения далее в неизменном виде повторяется во всех остальных повторениях.

При двух- и многорядном расположении повторений на де-

лянках варианты чаще всего размещают ступенчато; они идут в одном направлении, но в каждом следующем ряду начало схемы сдвигается на одну, две или больше делянок, а конец ее переносится в начало ряда. Такое расположение опыта иногда называют *шахматным*.

При многорядном расположении повторений могут быть и другие методы размещения вариантов. Однако при любых способах расположения повторений и вариантов нельзя допускать территориального сближения одноименных делянок, т.е. помещать их рядом как в вертикальном, так и в горизонтальном направлении. Следует стремиться одноименные делянки максимально удалять друг от друга, а при многорядном расположении повторений делянки каждого ряда в вертикальных столбцах помещать однократно. При неизбежности повторного размещения делянок одного варианта в одной вертикали необходимо располагать между ними по крайней мере две делянки других вариантов.

При регулярном изменении плодородия почвы недостатком последовательного систематического размещения вариантов является вероятность накопления систематических ошибок, так как всегда возможно, что система изменения плодородия будет коррелировать с системой расположения вариантов. При этом одни варианты будут находиться внутри повторения на делянках, расположенных рядом или близко, а другие - на делянках, удаленных одна от другой, что приводит к неравноточным сравнениям вариантов друг с другом и с контролем.

При многорядном расположении повторений и ступенчатом расположении вариантов внутри повторений неравноточность сравнения вариантов сглаживается, так как систематическое изменение плодородия внутри отдельных повторений опыта не будет коррелировать с системой расположения вариантов.

Случайное или *рендомизированное* (от англ. random - случайный, беспорядочный) расположение вариантов на делянках предложено Р.А. Фишером. Оно заключается в случайном (рендомизированном) размещении вариантов на делянках каждого повторения путем жребия или же по специально составленным таблицам случайных чисел. Этот способ основан на том, что все методы вариационной статистики приложимы в полной мере только к случайным явлениям, и поэтому статистическая обра-

ботка результатов опыта наиболее обоснованно применима при случайном расположении вариантов в пространстве.

При рендомизации значительно меньше возможностей корреляции между изучаемыми в опыте вариантами, что делает более равноточными их попарные сравнения. При систематическом изменении плодородия почвы рендомизация уравнивает его влияние внутри каждого повторения и тем самым предотвращает накопление систематических ошибок, превращая их в случайные.

Среди случайных методов размещения вариантов наибольшее распространение получил метод случайных блоков (повторений) и метод латинского квадрата.

Метод случайных блоков (повторений) – наиболее простой способ размещения вариантов. Их объединяют в несколько блоков, число делянок в каждом повторении равно числу вариантов схемы. Общее количество блоков определяется принятой в опыте повторностью. В блоке варианты по делянкам располагают в случайном порядке по жребью. В пределах каждого блока почвенные условия должны быть по возможности однородными. Форму блоков желательно иметь близкую к квадрату, чтобы улучшить сравнимость вариантов при любом размещении делянок в пространстве.

Форма делянок может быть удлинённая, укороченная и квадратная. Блоки на опытном участке располагают компактно в один, два или несколько ярусов, реже их размещают разбросанно, поодиночке или группами. Делянки внутри блоков также располагают в один, два или несколько рядов, иногда блокам придают ступенчатую форму.

Метод случайных блоков (повторений) называют также рендомизацией с одним ограничением. Он состоит в том, что в каждом блоке (повторении) должен быть полный набор вариантов схемы, и рендомизация здесь осуществляется в пределах каждого блока (повторения), а не на всем опытном участке.

Примеры рендомизированного расположения блоков (повторений) приведены на рисунке 2. При постановке опытов методом случайных блоков не исключена возможность того, что по жребью одноименные варианты будут размещены рядом. В этом случае для более равномерного распределения вариантов на опытном участке допустимо введение еще одного ограничения,

по которому одноименные делянки не должны примыкать к друг другу ни в горизонтальном, ни в вертикальном направлении.

1	3	4	2	3	2	1	4	2	4	3	1	4	1	3	2
<i>I</i>				<i>II</i>				<i>III</i>				<i>IV</i>			

1	4	3	2	3	2	4	1
3	2	1	4	2	4	1	2
<i>I</i>		<i>II</i>		<i>III</i>		<i>IV</i>	

7	2	8	4	6	1	5	3
8	4	6	1	5	3	7	2
6	1	5	3	7	2	8	4
5	3	7	2	8	4	6	1

Рисунок 2 – Схемы размещения вариантов методом случайных блоков (повторений)

A	B	C	D	F	E
B	C	D	F	E	A
C	D	F	E	A	B
D	F	E	A	B	C
F	E	A	B	C	D
E	A	B	C	D	F

a

F	B	E	D	C	A
B	F	A	C	E	D
C	A	D	E	B	F
E	C	F	A	D	B
A	D	C	B	F	E
D	E	B	F	A	C

б

Рисунок 3 – Схемы размещения вариантов методом латинского квадрата: *a* – систематическое; *б* – рендомизированное

Метод латинского квадрата состоит в том, что число по-

вторений (n) в опыте равно числу вариантов, а общее число делянок равно n^2 . Варианты на плане обозначают буквами латинского алфавита. При размещении опыта методом латинского квадрата опытный участок квадратной или прямоугольной формы разбивают на горизонтальные и вертикальные ряды по числу вариантов. В горизонтальном и вертикальном рядах помещают полный набор всех вариантов; это возможно только тогда, когда одноименные делянки не повторяются дважды ни в горизонтальном, ни в вертикальном ряду. Внутри этих рядов варианты на делянках расположены по жребью; здесь мы имеем рендомизацию с двумя ограничениями. В пределах латинского квадрата возможно и систематическое ступенчатое размещение вариантов на делянках. Схемы расположения опыта по методу латинского квадрата приведены на рисунке 3.

Расположение вариантов на делянках методом латинского квадрата очень удачное, так как оно позволяет при соответствующей математической обработке результатов опыта исключить влияние изменения плодородия почвы в двух взаимно перпендикулярных направлениях и снизить ошибку опыта.

Метод латинского квадрата используется при числе вариантов от 4 до 7. В случае увеличения количества вариантов потребовалась бы очень большая повторность в опыте. Чтобы сохранить возможность путем соответствующей математической обработки вычисления влияния систематического изменения плодородия почвы в двух взаимно перпендикулярных направлениях на точность опыта, не прибегая к очень большой повторности, варианты на делянках размещают по *методу латинского прямоугольника*. При этом методе число вариантов должно быть кратным числу повторностей. Частное от деления даст количество полос, на которое надо разделить каждый вертикальный ряд соответствующего латинского квадрата. Например, в опыте 8 вариантов при 4-кратной повторности. Разделив 8 на 4, получим 2. Находим, что каждый вертикальный ряд надо разбить на две полосы, и мы будем иметь полевой опыт, заложенный по методу латинского прямоугольника, по схеме $4 \times 4 \times 2$ (рисунок 4).

В этой схеме первая цифра означает принятую в опыте повторность, произведение двух последних цифр - количество изучаемых вариантов, а всех трех цифр: $4 \times 4 \times 2 = 32$ - число деля-

нок в опыте. Существуют и другие методы расположения вариантов с использованием рендомизации.

8	5	1	3	6	4	2	7
6	3	7	4	5	2	8	1
1	4	6	2	8	7	5	3
2	7	8	5	1	3	4	6

Рисунок 4 – Размещение полевого опыта методом латинского прямоугольника по схеме 4x4x2

Число и расположение контролей. Стандартные методы. В схеме опыта вариант, с которым сравнивают другие варианты, называют контрольным или контролем. В опытах с удобрениями им может быть делянка варианта без удобрений; она называется чистым контролем. Но в опытах по изучению действия удобрений (виды, формы, способы и сроки внесения) такой контроль не всегда обязателен. Чаще всего для сравнения действия какого-либо одного из трех основных питательных веществ (NPK) используется парная комбинация двух других элементов питания (фон); в этом случае фоновая делянка служит основным контролем. В опытах с новыми формами удобрений сравнение обычно ведут с делянкой, на которой размещен вариант с хорошо изученной формой удобрения (стандартное удобрение). При исследовании различных способов и сроков внесения удобрений за контроль принимают вариант с наиболее освоенными способами и сроками внесения удобрения.

В каждое повторение опыта может быть включена либо одна контрольная делянка, либо несколько. В первом случае общее число контрольных делянок равно числу делянок по любому другому варианту опыта, во втором число контролей повышенное и повторность их больше, чем повторность других вариантов опыта.

Введение в опыт повышенного по сравнению с другими вариантами числа контролей преследует цель – точнее охватить ими пестроту опытного участка и дать более надежный масштаб для сравнения всех других вариантов. Кроме того, повышенное

число контролей позволяет оценить пестроту плодородия участка при отсутствии данных дробного учета.

Обычно один контроль должен приходиться внутри каждого повторения на 6–8 вариантов (не больше). При 10–12 и более вариантах следует обязательно вводить дополнительные контроли; это даст возможность получать более точные средние как по контролям, так и по всем остальным вариантам.

1.1.4 Закладка опыта

Разбивка опыта. Прежде чем приступить к разбивке опыта в натуре, необходимо нанести намеченное размещение клиньев и делянок опыта на схематический план участка и уже по нему вести разбивку. Разбивку основных линий в натуре лучше производить стальной землемерной лентой (длиной 10 или 20 м). Отбивка прямых углов чаще всего производится эккером, причем восьмигранный эккер удобнее в работе и точнее, чем зеркальный.

Первая разбивка участка производится с наибольшей точностью, так, установленные при ней точки будут служить исходными при всех последующих разбивках. Допустимая неувязка при разбивке общего контура не должна превышать 5–10 см в зависимости от общей длины периметра. После отбивки общего контура приступают к разбивке участка опыта на делянки. Эта работа проводится уже без эккера – лентой или рулеткой. При однорядном расположении достаточно отложить ширину делянок по обеим сторонам участка и отметить их границы колышками. Ширина последней делянки должна оказаться одинаковой с остальными, в противном случае работу нужно проделать заново. При многорядном расположении сначала откладывают ряды делянок. Если между рядами намечены дорожки, одновременно выделяют и их. Последней операцией является опять разбивка на делянки. Можно производить ее для каждого ряда в отдельности или же отложить делянки только по краевым линиям, а на промежуточных границах или дорожках расставить колышки, провешивая прямые линии с одной стороны на другую.

Закрепление границ опыта. Сделанную разбивку необходимо закрепить, так как угловые (временные) колья могут быть выпажаны или сдвинуты при обработке. Существует много систем

закрепления границ опыта, но в основном все они сводятся к тому, что по крайней мере две основные линии участка опыта продолжают по прямой в обе стороны за пределы обрабатываемой площади (на края канав, обочины дорог и т.п.) и на этих продолжениях устанавливают уже постоянные колья (реперы, фиксировочные колья). Расстояния от постоянных (фиксировочных) до угловых временных колеёв тщательно измеряют и записывают, с тем чтобы в случае утери угловых колеёв их всегда можно было восстановить промером от постоянных. Постоянные колья могут быть сделаны из самого разнообразного материала. Чаще всего для этой цели употребляются толстые деревянные колья с перекладиной или с крестовиной внизу, зарываемые до 50–75 см в землю. Употребляются и каменные столбики. Непосредственно на углах севооборотного клина или участка однолетнего опыта также забиваются колья, но уже не такие капитальные. Они всегда рано или поздно повреждаются при пахоте. Поэтому необходимо тщательно проверить их после каждой обработки.

Внесение удобрений. Внесение удобрений представляет один из ответственных моментов полевого опыта как в опытах, в которых удобрение само является изучаемым фактором, так и в тех, в которых оно служит лишь общим фоном для других сравниваемых приемов. Сделанная при внесении удобрений ошибка впоследствии никак не может быть исправлена, а большей частью и не бывает обнаружена.

Минеральные удобрения рассчитываются по содержанию в них основного питательного вещества (N, P₂O₅ и K₂O). Необходимое количество каждого удобрения (в килограммах на делянку) определяется, формулой

$$X = \frac{a \cdot 100 \cdot c}{b \cdot 10000} = \frac{a \cdot c}{100 \cdot b},$$

где X - количество удобрений на делянку, кг; a - доза питательного вещества, кг/га; b - питательное вещество в удобрении, %; c - площадь делянки, м².

При небольших делянках (меньше 50 м²) удобнее иметь эту величину в граммах, для чего приведенное выражение надо умножить на 1000:

$$X = \frac{10 \cdot a \cdot c}{b},$$

Навеску менее 1 кг отвешивают с точностью до 1 г, от 1 до 10 кг – с точностью до 100 г. В зависимости от величины навески взвешивание производится на теххимических, на столовых чашечных или на десятичных весах.

Техника рассева удобрений должна обеспечивать возможно равномерное распределение их по делянкам. Ручной рассев удобрений производится из ведер. При расसेве удобрений вручную на большой делянке желательно деление ее на несколько равных частей и внесение соответствующей доли удобрения на каждую часть в отдельности.

При внесении на делянку нескольких удобрений следует строго соблюдать все правила смешения удобрений, излагаемые в курсе агрохимии и практических руководствах. В тех случаях, когда смешение удобрений допустимо, их лучше вносить в смеси, особенно при ручном внесении, так как при этом лучше обеспечивается одинаковое соотношение питательных веществ по всей площади делянки.

При механизированном внесении удобрений, так же как и при высеве различных сортов, засевают сразу все повторные делянки одним удобрением (или одной комбинацией удобрений), после чего сеялку тщательно очищают от остатков этого удобрения, производят установку на новую норму и после этого приступают к высеву следующего удобрения.

Навоз и другие органические удобрения (торф, компосты) обычно вносят по общему весу на единицу площади (в тоннах на 1 га), но правильнее вносить их по расчету на сухое вещество. Расчеты по сухому веществу делают так же, как и по содержанию питательных веществ для минеральных удобрений. В некоторых случаях при изучении эффективности отдельных питательных веществ навоза, его можно вносить по расчету на содержание соответствующего питательного вещества. Если навоз в навозохранилище или в куче недостаточно однороден, то перед вывозкой его необходимо тщательно перемешать в таком количестве, которое достаточно для всего опыта.

Обработка опытных делянок. Обработка опытных делянок,

помимо обычных требований, предъявляемых к ее качеству в хозяйственных условиях, должна отвечать требованию полной однородности на всех делянках опыта. При небольших размерах делянок необходимо, чтобы на них не было развальных борозд и свальных бугров, создающих неоднородность внутри делянки. В опытах с удобрениями, в которых обработка сама не является изучаемым фактором, применяется, как уже указывалось, обычно сплошная обработка всего участка опыта или севооборотного клина (в многолетнем опыте). Для того чтобы огрехи, разница в глубине отдельных борозд и другие подобные дефекты не нарушили сравнимости между делянками, направление обработки ориентируют обычно таким образом, чтобы каждая борозда проходила через делянки одного повторения или серии опыта.

При вытянутой форме делянок обработка производится, как правило, поперек делянок (по длине участка). Нужно лишь, чтобы пласт отваливался при первой обработке в одну, а при следующей – в обратную сторону. При квадратной форме делянок и многорядном их расположении обработку можно производить в обоих взаимно перпендикулярных направлениях. Само собой разумеется, что на опытном участке фигурная пахота недопустима, а применима только загонная. Повороты любых орудий должны производиться за пределами участка опыта. Для этого по коротким концам участков или клиньев должны оставаться свободные дорожки не менее 6 м шириной при конной обработке и 10–12 м при тракторной. Для продольных дорожек, если поперечная обработка не производится, достаточна ширина от 3 до 5 м.

Для того чтобы свалы и развалы не попадали на учетные делянки, производят одновременно вспашку двух рядов делянок (или двух половин многорядного участка опыта), пригоняя свал или развал на их границу. При достаточной ширине защитных полос (не менее 2 м) и аккуратной работе свал или развал не захватывают учетную часть делянок. Лучше, однако, иметь для этой цели специальную дорожку шириной 1–2 м посередине опытного участка. Вспашки участка всвал и вразвал должны чередоваться между собой. При однорядном расположении делянок или многорядном, но при малой величине делянок и отсутствии средней дорожки, на участке опыта приходится прибегать к вспашке в одну сторону.

Посев и посадка в опытах. Посев на опытных участках требует большой тщательности. Так же как и пахоту, посев производят обычно через все делянки повторности, перпендикулярно их длинным сторонам, с тем, чтобы случайные дефекты, например забившийся сошник, влияли одинаково на все варианты опыта. Исключение составляет посев комбинированной сеялкой, когда на отдельные делянки вносят при посеве различные удобрения. В этом случае каждую делянку засевают отдельно, и посев производят вдоль делянки и поперек участка. Такого рода опыты требуют вытянутой формы делянок и их однорядного расположения. Включение и выключение сеялок производят за пределами собственно опыта, не ближе 1 м от границы (линии угловых кольев). Обсев краев (поперечный) не производят или производят за границей участка опыта.

Первый ход сеялки делают либо по шнуру, натянутому с кола на кол по длинной стороне участка, либо по предварительно сделанной по шнуру бороздке; последнее удобнее. Совершенно недопустимы всякие остановки сеялки во время хода: при небольших делянках остановка сеялки на делянке и связанные с нею просев или двойной высев могут чувствительно повлиять на урожай этой делянки.

При посадке пропашных культур нужно, чтобы число растений на всех делянках было строго одинаково. Для этого ширина междурядий и расстояния между растениями в рядках должны быть рассчитаны таким образом, чтобы на делянку приходилось целое число борозд и кустов (или, наоборот, длину и ширину делянки надо брать кратными стандартным расстояниям между растениями в том или другом направлении). Борозды, так же как и рядки, при посеве лучше располагать вдоль участка и поперек делянок, но при достаточно больших и вытянутых делянках возможно и обратное расположение, т.е. нарезка борозд по длине делянки.

Защитные полосы. При сплошной обработке участков на границах различно удобренных делянок постоянно происходит некоторый перенос почвы, а с ней и внесенных удобрений с одной делянки на другую. Кроме того, сами растения, расположенные по краю делянки, могут использовать своими корнями питательные вещества не только со своей, но и с соседней, более бо-

гатов питательными веществами делянки. Поэтому по краям неудобренных (или более слабо удобренных) делянок, граничащих с удобренными, всегда наблюдается некоторая полоса растений, развитых лучше, чем во внутренней части делянки.

Краевые растения, соприкасающиеся с незасеянными дорожками по краю поля, также развиваются сильнее остальных растений, так как они дополнительно используют влагу и питательные вещества с этих дорожек и, кроме того, находятся в лучших условиях освещения. Влияние такого усиленного развития краевых растений на общий урожай с делянки тем сильнее, чем меньше ее площадь. Чтобы избежать ошибки в урожае за счет переноса удобрений и более сильного развития краевых растений, учитывают обычно не всю засеянную площадь делянки, а лишь ее центральную часть, обрезав более или менее широкие полосы по краям делянки.

Эти полосы носят название защитных. Первоначальная площадь, включающая защитные полосы, называется опытной делянкой, а площадь, остающаяся после обрезки защитных полос и служащая собственно для учета урожая, – учетной делянкой. Так как на границе двух делянок защитные полосы отрезаются по обе стороны границы, то общая ширина неучитываемой полосы, разделяющей учетные делянки, равна удвоенной ширине защитной полосы. Для однолетних опытов допустимы более узкие защитные полосы, но все же желательно иметь их не меньше 75 см (1,5 м в сумме). Иногда защитные полосы по узким сторонам делянок, совпадающим с краями участка, делают шире остальных с тем, чтобы они могли служить защитой от потрав и других случайных повреждений.

К специальным работам по уходу на опытном поле относятся: поддержание в чистоте дорожек и запольных участков, обрезка по шнуру концов после появления всходов и т.п.

В опытах могут и должны применяться все существующие способы борьбы с вредителями и болезнями растений, не влияющие на питательный режим почвы. Конечно, нельзя применять в опытах с фосфатами суперфосфат для борьбы с полевым слизнем или томасшлак для борьбы с блошкой.

Защитные полосы обрабатывают, удобряют и засевают вместе со всей делянкой. Растения убирают на них непосредственно

перед уборкой учетных делянок. Для того чтобы можно было точно выделить защитные полосы перед уборкой, необходимо заранее зафиксировать их границы. Чаще всего для этого пробивают по шнуру мотыгой или ручным планетом узкую полосу (15–20 см) по границе между учетной делянкой и защитной полосой (в сторону защитной полосы). Такую отбивку производят для яровых культур через 2–3 недели после появления всходов (обычно после полного окончания посевной и некоторого освобождения рабочих рук). Для озимых отбивку защитных полос производят поздно осенью или весной до выхода растений в трубку. Существует и ряд других способов выделения защитных полос. Удобно, особенно для небольших делянок, натягивать по границам защитных полос проволоку.

1.1.5 Уход за растениями и сопутствующие наблюдения в течение вегетационного периода

Уход за растениями на опытных делянках не отличается, по существу, от ухода за соответствующими культурами в хозяйственных условиях. Нужно лишь, чтобы все работы по уходу (полка, пропашка и т.п.) выполнялись постоянно и совершенно одинаково по всем делянкам и не растягивались во времени. Желательно, чтобы эти работы, по крайней мере в пределах каждого повторения, производились в течение одного дня.

В опытах могут и должны применяться все существующие способы борьбы с вредителями и болезнями растений, не влияющие на питательный режим почвы. Конечно, нельзя применять в опытах с фосфатами суперфосфат для борьбы с полевым слизнем или томасшлак для борьбы с блошкой.

К специальным работам по уходу на опытном поле относятся: поддержание в чистоте дорожек и запольных участков, обрезка по шнуру концов после появления всходов и т.п.

1.1.6 Учет результатов опыта

Подготовка к учету. Прежде чем приступить к учету урожая, надо удалить растения с тех частей делянки, которые не поступают в учет. Прежде всего, убирают защитные полосы. Для

культур сплошного посева защитные полосы выжинают или выкашивают по заранее пробитым бороздам или по натянутой проволоке. Если растения слишком густы, полегли или перепутались, так что границы защитных полос плохо видны, их предварительно проходят и разбирают руками. Снопки с защитных полос выносят на дороги, чтобы их нельзя было смешать с урожаем учетных делянок. Для пропашных культур отсчитывают число борозд или рядков, приходившихся на защитные полосы; выкапывают и урожай увозят с поля.

После производят последний осмотр учетных делянок, при котором отмечают выключки или производят полную выбраковку отдельных делянок. Выключку и выбраковку целых делянок делают с учетом всех предыдущих записей и наблюдений и лишь в том случае, если есть совершенно объективные данные, говорящие о вымочке, повреждении, ошибке в работе или какой-либо другой причине, заведомо изменившей урожайность делянки или ее части. Делать выключки и браковать делянки на основании чисто субъективного впечатления о неоднородности повторений или частей делянки ни в коем случае не следует.

Для простоты последующих расчетов выключки следует делать прямоугольными или, еще лучше, выключать определенную часть делянки: половину, треть, четверть и т.д. При небольших делянках (10–20 м²) и достаточной повторности лучше вообще не делать выключек, а выбраковывать делянки целиком. Урожай с тех и других также удаляют за пределы участка опыта. Для пропашных делают одновременно подсчет наличных кустов или корней на каждой учетной делянке для внесения в дальнейшем поправок на недостающие растения.

Прямой и косвенный методы учета урожая. Для учета опыта может быть использована либо вся масса урожая, полученного с учетной делянки, либо ее часть, представляющая составленную тем или иным способом среднюю пробу из урожая всей делянки. Первый метод учета урожая может быть назван прямым, второй – косвенным. В применении к зерновым культурам прямой метод учета называется учетом по обмолоту всей делянки. Наиболее распространенным косвенным методом учета зерновых является учет по пробному снопу.

Сущность учета по *пробному снопу* заключается в том, что в

сушку и на учетный обмолот поступает не весь урожай учетной делянки, а лишь средняя проба из него – пробный сноп. Определив урожай зерна и соломы в подобном снопе и зная соотношение весов урожая всей делянки и пробного снопа, высчитывают тот урожай зерна и соломы, который получился со всей делянки.

Пробные снопы должны составлять не меньше 1–2% от общей массы урожая, так как иначе они представляют недостаточно характерную среднюю пробу. Слишком большие снопы тоже неудобны, так как плохо сохнут в мешках.

Учет картофеля и корнеплодов, как правило, производят путем взвешивания всей массы урожая. Взвешивать урожай можно и на месте, и в сарае, куда весь урожай привозят в мешках с этикетками. Более удобным следует считать взвешивание урожая непосредственно на делянке. В случае большой влажности почвы клубни или корни раскладывают до взвешивания на несколько часов нетолстым слоем на делянке для подсушки, а затем протряхивают на ручном грохоте. Взвешивать удобно в корзинах или специальных носилках с ящиком. Во многих случаях определяют и урожай ботвы, которую также взвешивают на месте. При различной степени подсыхания ботвы из нее берут средние пробы для определения влажности. Эти пробы чаще всего приходится сушить в огневой сушилке или определять влажность лабораторными методами.

Очень часто приходится брать пробы из урожая корней и клубней (для определения крахмала в картофеле, сахара - в сахарной свекле, сухого вещества в кормовой свекле и т.д.). Пробы собирают обычно в количестве 10–15 кг картофеля и нескольких десятков корней корнеплодов и хранят в мешках с этикетками. Эти пробы составляют таким образом, чтобы соотношение крупных, средних и мелких экземпляров в пробе по возможности соответствовало их соотношению во всем урожае делянки.

Контрольные вопросы

1. Что такое полевой опыт и для чего он нужен? 2. Какова роль опытов в научных исследованиях и в производстве? 3. Что необходимо для планирования и проведения опытов? 4. Что такое программа и схема опыта? 5. Каковы принципы разработки

схем опытов? 6. В чем различия схем опытов по дозам и срокам внесения удобрений? 7. Каковы различия схем по видам и формам удобрений? 8. Как составить схему опыта по способам внесения и заделки удобрений? 9. Как выбрать участок для полевого опыта? 10. Что такое уравнильные и рекогносцировочные посева? 11. Расскажите о формах и размерах делянок, размещении их. 12. Как размещают варианты и повторности по делянкам? 13. Что вы знаете о наблюдениях и методах учета урожая в полевом опыте? 14. Чем отличаются производственные опыты?

1.2 ВЕГЕТАЦИОННЫЙ МЕТОД

Многие вопросы агрохимии и физиологии питания растений решаются при помощи вегетационного метода, то есть постановкой опытов с выращиванием растений в сосудах, в строго контролируемых условиях корневого питания и снабжения растений водой.

В зависимости от того, в какой среде (вода, песок, почва) выращиваются растения, различают следующие модификации вегетационного метода: *водная, песчаная и почвенная культура*. При проведении опытов летом обычно растения выращиваются в *вегетационном домике*. Сосуды с растениями стоят на вагонетках, которые могут легко выкатываться на площадку перед домиком, где они находятся в естественных условиях освещения и температуры. Ночью и во время дождя вагонетки с растениями вкатываются в домик, где благодаря хорошей вентиляции температура близка к температуре открытого воздуха. Зимой растения выращивают в зимних теплицах при дополнительном освещении (люминесцентные лампы или большие лампы накаливания). В водных и песчаных культурах все необходимые элементы минерального питания дают в виде *питательных смесей*.

1.2.1 Питательные смеси для водных и песчаных культур растений

Питательные смеси должны содержать все необходимые элементы минерального питания в усвояемой форме и в концен-

трации, не оказывающей вредного действия на растение. В питательной смеси создают и поддерживают в течение опыта оптимальную для каждого растения концентрацию водородных ионов.

Известно, что для растений, безусловно, необходимы следующие группы элементов минерального питания: 1) *K, Ca, Mg, S, P, N*; 2) *Fe*; 3) *B, Mn, Zn, Cu, Mo*.

К первой группе относятся макроэлементы, содержание которых в растениях довольно велико (от 0,1 до нескольких процентов сухого веса). При концентрации до 200–300 мг/л в наружном растворе они не оказывают вредного действия на растение. Третья группа - микроэлементы, содержание которых в растении составляет сотые, тысячные и десятитысячные доли процента от сухого веса растения. Большинство микроэлементов в растворе при концентрации выше 0,1–0,5 мг/л угнетает рост растений. Железо занимает промежуточное место между макро- и микроэлементами. Его оптимальная концентрация в наружном растворе 5–10 мг/л. Во всех питательных смесях *S, P, B* и *Mo* входят в виде анионов SO_4^{2-} , PO_4^{3-} , BO_5^- , и MoO_4^{2-} , азот – в виде NO_3^- и NH_4^+ , железо большей частью применяют трехвалентное, иногда двухвалентное.

Типы питательных смесей. Рецептов питательных смесей очень много. Несмотря на кажущееся разнообразие смесей, все они принадлежат к одному из трех типов в зависимости от источника азота и фосфора, поскольку именно соли этих элементов определяют в конечном итоге реакцию среды в растворе. Соли, содержащие азот и фосфор, называют сопряженной парой. Сопряженные пары солей в трех типах смесей следующие: 1) $Ca(NO_3)_2$ и KH_2PO_4 ; 2) KNO_3 и $Fe_3(PO_4)_2$; 3) NH_4NO_3 и $CaHPO_4$ или $Ca_3(PO_4)_2$.

Первый тип смесей характеризуется тем, что химически кислой соли KH_2PO_4 противопоставляется физиологически щелочная соль $Ca(NO_3)_2$. При росте растений на этих смесях, как правило, реакция смещается в щелочную сторону. Все соли даются в легкорастворимой форме. К этому типу принадлежат смеси Кнопа, Гельригеля, Хоглэнда, Тотингэма и Шайва и многие другие (таблица 1).

Таблица 1 – Концентрация солей в некоторых смесях

Соль	Концентрация соли в смесях					
	Кнопа		Гельригеля		Хогленда	
	г/моль	ммоль/л	г/моль	ммоль/л	г/моль	ммоль/л
Ca(NO ₃) ₂	1,0	6,1	0,492	3,0	0,821	5,0
KH ₂ PO ₄	0,25	1,8	0,136	1,0	0,136	1,0
MgSO ₄	0,125	1,0	0,060	0,5	0,120	1,0
KCl	–	–	0,075	0,5	–	–
KNO ₃	0,25	2,5	–	–	0,506	5,0
FeCl ₃	следы	следы	0,025	0,15	–	–
Fe винно-кислое	–	–	–	–	0,005*	0,03
	1,63	12,5	0,788	5,15	1,588	12,3

*виннокислое железо прибавляется в течение вегетации

Второй тип смесей содержит азот в виде KNO₃ – слабо физиологически щелочной соли. Источник фосфора – труднорастворимая соль Fe₃(PO₄)₂, способная к гидролитическому расщеплению. При этом образуется слабое основание – гидрат железа и более сильная кислота H₃PO₄. Поэтому уменьшается подщелачивание раствора, вызванное физиологической щелочностью азотнокислого калия. Примером смеси второго типа является смесь Крона (таблица 2).

Таблица 2 – Состав смеси Крона

Соль	KNO ₃	Fe ₃ (PO ₄) ₂	Ca ₃ (PO ₄) ₂	CaSO ₄ ·2H ₂ O	MgSO ₄ ·7H ₂ O
Концентрация, г/л	1,00	0,25	0,25	0,50	0,50

Характерная особенность смеси – наличие труднорастворимых солей Fe₃(PO₄)₂, Ca₃(PO₄)₂ и CaSO₄. Соли находятся в осадке, в растворе находятся ионы Ca²⁺, Fe²⁺ и PO₄³⁻ в очень низкой концентрации. По мере поглощения растением этих ионов в раствор из осадка переходят новые порции солей. Таким образом, концентрация их в растворе удерживается на низком, но постоянном уровне. В некоторой степени эта смесь имитирует условия питания растений в почве, так как в почвенном растворе многие

вещества находятся в очень низкой концентрации и также по мере использования их растением пополняются за счет растворения труднорастворимых соединений.

Третий тип смесей разработан впервые в 1901 г. Д.Н. Прянишниковым и его сотрудниками. Стремясь избежать физиологической щелочности, Д.Н. Прянишников заменил азотнокислый кальций азотнокислым аммонием – слабо физиологически кислой солью. Подкисление смеси уменьшается благодаря буферности CaHPO_4 , взятой как источник фосфора. Позднее в лаборатории Прянишникова были разработаны Ш.Р. Цинцадзе (1928) такие смеси (таблица 3), в которых рН раствора почти не изменяется в течение длительного периода роста растений.

Таблица 3 – Состав питательной среды Прянишникова и Цинцадзе со стабильной реакцией сред

Соль	Концентрация соли в смесях					
	Прянишникова		Цинцадзе, при значениях рН			
	г/моль	ммоль/л	4,0	5,0	5,5–6,6	7,3
NH_4NO_3	0,240	3,0	0,33	0,33	0,20	–
$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,172	1,0	–	–	–	–
MgSO_4	0,06	0,5	0,50	0,50	0,50	0,50
$\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,344	2,0	1,46	0,50	–	0,28
KCl	0,150	2,0	0,61	0,61	0,36	–
FeCl_3	0,025	0,15	–	–	–	–
KNO_3	–	–	0,17	0,17	0,51	0,80
$\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$	–	–	0,04	0,25	0,32	0,25
FePO_4	–	–	0,68	–	–	–
$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	–	–	–	0,70	5,00	0,70
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	–	–	–	–	–	0,21
KOH	–	–	–	–	–	0,17

Для составления этих смесей учитывались следующие свойства некоторых компонентов: 1) буферность фосфатов кальция, 2) гидролитическая кислотность $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, 3) физиологическая кислотность NH_4NO_3 и физиологическая щелочность KNO_3 . Как видно, смеси Прянишникова и Цинцадзе наряду с легкорастворимыми солями содержат и труднорастворимые.

В смесях всех типов общая концентрация растворимых со-

лей не превышает 0,2 - 0,3%. Поэтому все соли полностью диссоциированы и, следовательно, все питательные вещества находятся в виде ионов, которые могут реагировать друг с другом, давая новые нерастворимые соединения (таблица 4).

Таблица 4 – Современные рецептуры для выращивания растений в водной культуре

Компоненты, мг/л	Смесь ЛТА	Смесь Била	Смесь Калифорнийской опытной станции	Смесь Гидро Агри
NH_4NO_3	–	200	–	–
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	160	–	–	–
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	2570	–	475	540
KH_2PO_4	300	–	136	128
KNO_3	–	500	1010	450
K_2SO_4	–	–	–	336
H_3PO_4 (77%)	–	–	–	76
$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	–	550	–	–
MgSO_4	600	300	120	60
FeCl_3	1	–	–	–
$\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$	–	22	220	–
H_3BO_3	2	2,9	2,9	1,82
H_2SO_4	–	0,9	0,9	–
MnSO_4	–	1,9	1,9	1,53
CuSO_4	–	0,2	0,2	0,11
ZnSO_4	–	0,2	0,2	1,08
Хелат железа (феризан)	–	–	–	3,55

Если в прописях питательных смесей отсутствуют микроэлементы, рекомендуется использовать раствор Браунера-Букача (таблица 5).

Источники железа. В большинстве питательных смесей железо дается в виде неорганических солей FeCl_3 или $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$. Но ионы железа, встречаясь в растворе с ионами PO_4^{3-} , могут выпасть в осадок белого цвета в виде FePO_4 , что особенно часто бывает, когда рН раствора становится выше 6,5. В более щелочных растворах выпадает также осадок и гидрата железа желтого цвета.

Таблица 5 – Раствор Браунера-Бугача мг/л (1 мл раствора добавляют к 1 литру готовой питательной смеси без микроэлементов)

Компоненты	мг/л	Компоненты	мг/л
MnCl ₂	350	Co(NO ₃) ₂	50
H ₃ BO ₃	500	TiO ₂	50
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	50	LiCl	25
CuSO ₄ ·5H ₂ O	50	KBr	25
Al ₂ (SO ₄) ₃ ·18H ₂ O	50	KI	25
NiSO ₄ ·7H ₂ O	50	SnCl ₂ ·2H ₂ O	25

В некоторые смеси железо входит в виде труднорастворимого фосфорнокислого железа (трех- и двухвалентное). При использовании в качестве источника железа неорганических солей с повышением рН смеси концентрация иона железа очень понижается, но после того как рН становится выше 8,5, растворимость фосфорнокислого железа вновь увеличивается. Понижение концентрации железа в растворе может вызвать хлороз растений.

С целью устранения возможности наступления хлороза при выращивании растений стали применять железо в виде солей органических кислот: лимонной и винной. Эти кислоты образуют с железом достаточно прочные комплексные соединения, поэтому оно удерживается в растворе даже при высоких рН. Растения легко используют железо из этих комплексов. Несмотря на большие преимущества использования цитрата и цитрата железа, есть и трудности в их применении. Винная и лимонная кислоты – хороший субстрат для некоторых бактерий. При интенсивном поглощении кислорода корнями иногда в питательной смеси могут создаваться анаэробные условия и благодаря деятельности микроорганизмов будут происходить процессы денитрификации и восстановления сульфатов до S²⁻. При этом часто образуется сернистое железо, которое осаждается на корнях, отравляя их. Такие процессы особенно быстро протекают в жаркую погоду и приводят к гибели растений. Поэтому при применении виннокислого и лимоннокислого железа его вносят небольшими порциями (0,5–1,0 см³ 0,5%-го раствора на 1 л смеси) периодически через 2–3

дня и очень тщательно следят за аэрацией растворов.

В настоящее время применяются другие комплексы железа, так называемые хелаты. Из них наибольшее распространение получил хелат железа с этилендиаминтетрауксусной кислотой, имеющий большую прочность в щелочном растворе.

Кроме обычного внесения железа в раствор для устранения уже появившегося хлороза можно применять внекорневые подкормки. Для этого вечером надземные органы растений опрыскивают раствором FeCl_3 (0,01–0,02% -й). Нельзя давать внекорневые подкормки утром, так как нагревание солнечными лучами листьев, смоченных раствором, может повредить растение.

Микроэлементы. Бор вносится в виде борной кислоты (H_3BO_3), молибден – в виде натриевой или аммонийной соли молибденовой кислоты H_2MoO_4 , марганец, медь и цинк – в виде двухвалентных солей серной или соляной кислоты.

Обычные концентрации микроэлементов для большинства растений приведены в таблице 6.

Таблица 6 – Концентрация микроэлементов в питательных смесях

Элемент	B	Mn	Cu	Zn	Mo
Концентрация, мг/л	0,1-1,0	0,1-1,0	0,01-0,05	0,02-0,1	0,01-0,1

Некоторые растения, например, подсолнечник, хлопчатник, бобы, свекла, очень требовательны к наличию бора. Доза бора для них может быть повышена до 1–2 и 3 мг/л. Даже при составлении питательной смеси на водопроводной воде прибавление больших доз бора для этих растений является необходимым.

В опытах по изучению влияния на растения недостатка микроэлементов используемые для составления питательных смесей соли и воду специально очищают.

pH питательных смесей. Большое значение при выращивании растений имеет реакция среды. Кроме прямого действия на растение концентрация водородных ионов оказывает косвенное влияние на питание растений путем изменения растворимости различных питательных веществ.

В таблице 7 приведены оптимальные значения pH среды для

некоторых растений. Но нужно указать на относительность этих величин. Концентрация водородных ионов – фактор, влияние которого на растение меняется в зависимости от концентрации других ионов в растворе. Как показали работы Д.Н. Прянишникова, А.В. Петербургского, особенно большую роль играет кальций; чем выше его концентрация в растворе, тем больше диапазон оптимального значения рН среды для растения и тем большую концентрацию водородных ионов могут выносить растения, не повреждаясь.

Таблица 7 – Оптимальное значение рН среды для роста растений

Культура	рН	Культура	рН
Пшеница	6,5-7,8	Капуста	5,0-6,0
Ячмень	6,5-7,8	Картофель	5,0-7,2
Рожь	5,0-6,0	Конопля	6,0-7,0
Овес	5,0-6,0	Лен	5,0-6,0
Кукуруза	5,5-7,5	Огурцы	5,5-7,4
Бобы конские	6,0-7,0	Салат	6,0-8,0
Горох	6,0-7,0	Подсолнечник	5,7-6,5
Люпин	4,5-6,0	Сахарная свекла	7,0-8,0
Люцерна	6,2-7,8	Табак	5,2-6,5
Фасоль	6,7-7,4	Томат	5,6-6,5
Гречиха	5,0-6,5	Тыква	6,0-7,0

Также очень большое влияние на величину оптимальной концентрации водородных ионов оказывает источник железа и азота. Согласно исследованиям Д.Н. Прянишникова (1954), оптимальный рН для роста свеклы при нитратном питании 7,0, а при аммонийном 5,5.

1.2.2 Техника постановки водных культур

Семена исследуемой культуры проращивают на фильтровальной бумаге, а затем переносят на парафиновый диск, плавающий в кристаллизаторе, заполненном водой. Через несколько дней проростки высаживают в сосуды с питательной смесью.

Приготовление парафиновых дисков. Парафин расплавляют

в фарфоровом стакане или чашке на водяной бане. Нельзя нагревать сосуд с парафином непосредственно на газовой горелке или электроплитке, так как парафин может вспыхнуть. Расплавленный парафин выливают на поверхность теплой (50–60°C) воды, налитой в сосуд нужного диаметра. При остывании парафина образуется пластинка с ровными верхней и нижней поверхностями. Если парафин вылить в холодную воду, то при быстром охлаждении его нижняя поверхность становится очень неровной. Толщина слоя парафина зависит от величины семян, с которыми предстоит работать. Для кукурузы, гороха, люпина, бобов, тыквы, хлопчатника и др. делают парафиновый диск толщиной 10–12 мм, для семян хлебных злаков, огурцов и других – 6–8 мм. Как только парафин начинает затвердевать, диск отделяют скальпелем или ножом от внутренних стенок сосуда и оставляют на воде до полного остывания. Вынимают диск, когда он еще достаточно эластичен, кладут на стекло верхней поверхностью вниз и сверлом или стеклянной трубкой на равном расстоянии друг от друга делают отверстия, диаметр которых чуть-чуть меньше диаметра семян. На периферии круга просверливают два или три отверстия, в которые продевают звонокый провод, делая из него дужку, за которую можно вынимать парафиновый круг. Для очень мелких семян табака, амарантуса и других растений складывают в два или три раза марлю и опускают ее в расплавленный парафин. После остывания иглой делают в марле мелкие отверстия для семян.

Подготовка сосудов. Обычно пользуются стеклянными цилиндрическими сосудами объемом 3–5 л. Для больших растений берут сосуды большого объема. Все сосуды для одного опыта берутся одинаковые; объем их измеряют мерным цилиндром. Уровень питательной смеси должен быть на 1,5–2,0 см ниже верхнего края сосуда. Восковым карандашом отмечают исходный уровень смеси в сосуде. В дальнейшем по этой метке производят корректировку объема смеси.

Для защиты корневой системы от света на сосуды надевают футляры. Их делают из двух слоев материи, изнутри черной, сверху белой (чтобы сосуды не перегревались). Вверху футляры стягиваются тесемкой. Сосуд должен свободно входить в футляр, чтобы во время выращивания растений можно было наблюдать за

корнями. Можно обернуть сосуд картоном или плотной бумагой, сложенной в несколько рядов. Сосуды закрывают крышками, в которых укрепляют растения.

Подготовка крышек. Наиболее распространены деревянные крышки (рисунок 5). Можно изготовить крышки из эбонита, пластмассы или корковой пробки. Нижняя часть крышки имеет диаметр на 1–1,5 см меньше внутреннего диаметра сосуда, а верхняя несколько больше наружного диаметра. Крышка для выращивания одного растения имеет одно отверстие в середине и вырезной сектор. Такое устройство крышек позволяет легко вынимать растения любого возраста из отверстия крышки, не повреждая корней.

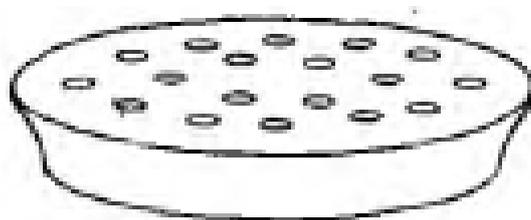


Рисунок 5 – Крышка для выращивания нескольких растений

Крышки для выращивания нескольких растений имеют несколько отверстий. В крышке имеется отверстие, куда вставляется трубка для продувания воздуха через раствор.

Во избежание развития плесневых грибов и бактерий крышки пропитывают парафином, для чего чисто вымытые крышки опускают в чашку с расплавленным парафином, стоящую на нагретой водяной бане. Новые крышки выдерживают в жидком парафине около часа, после этого их вынимают и ставят на ребро, давая стечь парафину. Последний должен пропитать дерево, однако так, чтобы на крышке при остывании не было заметного слоя парафина, так как летом при нагревании солнцем он может расплавиться и покрыть поверхность раствора в сосуде пленкой, мешающей диффузии кислорода в раствор. Крышки, бывшие в употреблении, перед постановкой опыта вновь парафинируют.

Трубки для продувания диаметром 6–10 мм имеют загнутый под тупым углом верхний конец и оттянутый нижний для образования мелких пузырьков воздуха. В каждый сосуд вставляют отдельную трубку.

Подготовка семян. Для опытов берут чистосортные семена

с хорошей всхожестью и энергией прорастания. Их проверяют перед началом опыта. Отбирают одинаковые по размерам и внешнему виду семена в количестве, в 5–6 раз большем, чем предполагаемое число растений в опыте.

Если предварительное проращивание показало, что семена заражены грибами, то семена протравливают, для чего их опускают на 5 мин в 1%-й формалин, постоянно помешивая стеклянной палочкой (семена должны свободно плавать в формалине). Формалин сливают через воронку Бюхнера и тщательно промывают семена водопроводной водой. Отобранные семена насыпают тонким слоем в кристаллизатор или кювету, наливают водопроводной воды или, когда это требуется, дистиллированной высотой 2–3 см. После 4–12-часового набухания семена раскладывают для прорастания правильными рядами на влажной фильтровальной бумаге в кристаллизаторе (зародыши семян должны быть направлены в одну сторону; расстояние между рядами 2–3 см). Внутренние боковые стенки кристаллизатора покрывают полосой влажной фильтровальной бумаги. Сверху закрывают стеклом, с нижней стороны которого также положена влажная фильтровальная бумага. Она не доходит немного до стенок кристаллизатора. Между стеклом и стенками кристаллизатора с одной стороны оставляют небольшую щель для свободного доступа воздуха. Один или два раза в день просматривают бумагу и при необходимости увлажняют ее. Семена можно проращивать иначе, для чего на дно кристаллизатора или кюветы на какую-либо подставку кладут стекло, покрывают его фильтровальной бумагой, концы которой опускают в налитую на дно кюветы воду. Бумага при этом сохраняется все время влажной.

Следует отметить, что имеются некоторые семена, которые прорастают только в темноте или гораздо быстрее в темноте, чем на свету (тыква и др.). Есть другая группа семян: они прорастают только на свету (амарантус).

Подготовка проростков. Когда у большинства семян корни вырастут до 1,5–2 см, отбирают проростки с равной длиной корней и высаживают их в отверстия парафинового диска, плавающего на водопроводной, дистиллированной воде или питательной смеси (в зависимости от схемы опыта). Ежедневно меняют воду в кристаллизаторе, следя за тем, чтобы температура

свежей порции воды была такой же, как и в кристаллизаторе с проростками.

На парафиновом диске проростки находятся до тех пор, пока надземные органы (колеоптиль, гипокотиль) не достигнут высоты 3–4 см. Проростки некоторых растений образуют боковые корни, располагающиеся на поверхности парафинового диска. Эти корни могут подсыхать. Поэтому такие семена после набухания лучше проращивать во влажном кварцевом песке (в глубоком кристаллизаторе). Когда надземные органы достигнут высоты 3–4 см, проростки пересаживают сразу в сосуды с питательной смесью. Для того чтобы не повредить корни, песок отмывают водой до полного удаления прилипших песчинок.

Подготовка растворов питательных солей. Приготавливают исходные растворы каждой соли отдельно. Концентрация растворов должна быть такой, чтобы при составлении смеси можно было легко взять отмериваемый объем раствора. Например, для приготовления 5 л смеси Кнопа удобны растворы 10%-й $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ и 5%-й K_2HPO_4 . Первого раствора нужно взять 50 см³, а второго 25 см³. При большем числе сосудов в опыте смесь готовят сразу на несколько сосудов в бутылки объемом 10–20 дм³, отмечая предварительно уровень нужного объема. Концентрацию растворов солей рассчитывают в объемных процентах (грамм на 100 см³ раствора). Предварительно проверяют, содержат ли соли кристаллизационную воду.

Соли железа не вносят в общую бутылку, а отмеривают в каждый сосуд после того, как туда будет налита приготовленная смесь. Растворы солей хранят в темных склянках. Приготавливают индикаторы для определения рН от 4 до 8.

Приготовление питательной смеси. Составляют в рабочей тетради таблицу, где указаны схема опыта, номера серий, номера сосудов каждой серии, концентрация исходных растворов, количество миллилитров, которое нужно брать, и объем приготовляемой смеси.

Наливают воду в бутылку или сосуд в объеме несколько меньшем конечного. Затем приливают (отмеривают пипеткой) рассчитанное количество миллилитров растворов солей в определенном порядке. Сначала приливают те соли, которые при смешивании не могут дать нерастворимых соединений; напри-

мер, при приготовлении смеси Кнопа берут KCl , $MgSO_4$, KH_2PO_4 , хорошо перемешивают, а затем приливают $Ca(NO_3)_2$ и доливают водой до метки. После вторичного перемешивания определяют рН смеси и, если нужно, доводят до заданной величины, прибавляя 5–10%-ю H_2SO_4 или 5–10%-й $NaOH$. Записывают количество прилитой кислоты или щелочи. При приготовлении следующей порции смеси без предварительного определения рН сразу приливают то же количество кислоты или щелочи. Затем смесь разливают в сосуды и отдельно в каждый вносят соль железа.

Если работают со смесью, в состав которой входят труднорастворимые соли, то предварительно готовят навески этих солей для каждого сосуда отдельно. Хранят их в кальке или гладкой писчей бумаге. Высыпают приготовленные навески в сосуды после того, как в них налита смесь растворимых солей. После хорошего перемешивания устанавливают рН в каждом сосуде. Из-за присутствия в смеси труднорастворимых солей равновесие может наступить не сразу, поэтому рекомендуется через 12–24 ч еще раз проверить рН и только после этого высаживать растения.

Высаживание проростков в сосуды. Из проростков, находящихся на парафиновом диске, тщательно отбирают одинаковые по размерам надземных органов и корневой системы. Из ваты готовят длинную узкую полосу, завертывая ее края внутрь так, как это делают для пробок в микробиологической работе. Плотнo обертывают гипокотиль или колеоптиль растения и вставляют в отверстие деревянной крышки сосуда так, чтобы семена не были погружены в раствор, а находились непосредственно под крышкой. В крышках для нескольких растений узкие части отверстий плотно закрывают ватой. Вместо ваты можно укреплять растения при помощи кусочков хорошо промытой и прокипяченной резиновой губки.

Переносить проростки в сосуды на питательную смесь нужно вечером. Рекомендуется сначала дать смесь, разбавленную в 2–4 раза. Несоблюдение этих условий может привести к завяданию и даже гибели растений из-за резкого изменения их водообмена.

Уход и наблюдение за растениями. Ежедневно в течение 5 мин сосуды с растениями продувают воздухом. Этого времени

достаточно для насыщения смеси кислородом. В жаркие дни целесообразно продувать растения два раза в сутки.

Одновременно продувают 4–8 сосудов, присоединяя верхние концы опущенных в них стеклянных трубок к резиновой груше или насосу с помощью гребенки или системы тройников. Во время продувания следят, чтобы во всех сосудах скорость тока воздуха была одинаковой (2–3 пузырька в секунду), а стеклянные трубки доходили до дна сосудов. Ток пузырьков воздуха не должен быть сильным, так как это может повредить нежные части корней и привести к намоканию ваты крышек, что вызовет рост грибов и водорослей.

Ежедневно сосуды доливают дистиллированной водой до метки; при экономии дистиллированной воды можно приливать равное количество водопроводной. Если в некоторых сосудах объем раствора остается меньше заданного, то доливают до метки дистиллированной водой. Записывают количество прилитой водопроводной воды для учета внесенных с нею солей.

Ежедневно или через день проверяют рН раствора, записывая его. Если он изменился, то крышку с растениями переносят в запасной сосуд с водой. В сосуд с питательной смесью приливают столько кислоты или щелочи, сколько нужно для доведения рН до заданной величины. Если приливать кислоту или щелочь в смесь, не вынимая растений, то можно легко повредить корни. Графическое изображение смещения рН, происходящего за сутки в каждом сосуде, помогает при обработке результатов опытов выяснить, насколько одинаковы условия реакции среды в разных сосудах.

В течение вегетационного периода смеси в сосудах меняют несколько раз на свежеприготовленные. Обычно это делают через 2–4 недели. При смене растворов сосуды тщательно моют (часто на верхней части стенок сосудов образуется осадок фосфорнокислого кальция, который отмывают соляной кислотой).

Если вата, которой укреплены растения, окажется смоченной, ее сейчас же заменяют сухой.

Если выращиваемое растение становится высоким, то во избежание его поломки на сосуд надевают проволочный каркас. Нижняя часть каркаса доходит почти до основания сосуда и укрепляется тесемкой.

Каковы бы ни были задачи опыта, обязательно производят фенологические наблюдения. Кроме того, отмечают в дневнике все характерные особенности растений различных вариантов опыта: форму и цвет листьев, стеблей; угол черешка листьев к стеблю, угол расположения побегов кущения у злаков; временную потерю тургора листьев; особенности формы и роста корневой системы и т.д.

Для решения ряда вопросов пользуются некоторыми модификациями метода водных культур. Основные из них: 1) текучие культуры и 2) культуры с изолированным питанием корней.

1.2.3 Техника постановки песчаных культур

Растения выращивают в сосудах, наполненных кварцевым песком с питательной смесью. Используют такие же питательные смеси, что и для постановки водных культур. Твердая среда, где находятся корни, создает условия, более близкие к обычным условиям роста растений в почве, но в то же время позволяет исключить влияние сложных химических и биологических процессов, всегда идущих в почве.

В опытах используют чистый кварцевый песок, просеянный через сито с отверстиями 0,5–0,8 мм. Песок состоит из SiO_2 (99%) и небольшого количества примесей: Al, Fe, Ca, Mg и др.

В тех случаях, когда требуется полное отсутствие питательных веществ, особенно микроэлементов, песок промывают крепкой соляной кислотой. Последнюю наливают в стеклянные сосуды до половины, а затем всыпают песок. Закрывают сосуды стеклами и оставляют на 2–3 дня, периодически помешивая толстой стеклянной палочкой. Затем сифоном сливают кислоту, которую можно использовать для промывки других порций песка. Промывают песок водопроводной водой до полного удаления соляной кислоты (проба на лакмус) и дистиллированной до отсутствия реакции на Cl, которую проводят с AgNO_3 . Песок высушивают и прокаливают на железных противнях при 400°C . Приготовленный песок складывают в лари или плотно закрытые ящики. Влажность песка не должна меняться за время набивки сосудов.

Определение влагоемкости и влажности песка. Влажность

песка определяют высушиванием проб при 105 °С. Для определения влажности и влагоемкости нужно правильно взять среднюю пробу.

Полная капиллярная влагоемкость песка или почвы - это количество воды, удерживаемое капиллярными силами в 100 г абсолютно сухого песка или почвы. Для определения влагоемкости служат специальные металлические цилиндры диаметром 4 см, высотой 18 см. Цилиндр имеет сетчатое дно, расположенное на расстоянии 1 см от его нижнего края. На дно цилиндра кладут двойной кружок влажной фильтровальной бумаги, взвешивают цилиндр на технических весах и насыпают в него почти доверху песок, слегка постукивая по стенкам цилиндра, благодаря чему песок будет лежать более плотно. Цилиндры ставят на дно кристаллизатора с небольшим слоем воды. Уровень воды в кристаллизаторе должен быть на 5–7 мм выше уровня сетчатого дна. Для уменьшения испарения воды всю установку или только цилиндры закрывают стеклянным колпаком. После того как вода поднимется до поверхности песка, что заметно по изменению его цвета, цилиндры вынимают из воды, обсушивают снаружи и ставят на фильтровальную бумагу. Как только вода перестанет стекать, цилиндры взвешивают на технических весах и на 1–2 ч помещают в кристаллизатор под колпак и вновь взвешивают. Эту операцию повторяют до тех пор, пока вес цилиндра с почвой, поглотившей воду, не станет постоянным. Нельзя после первого взвешивания ставить цилиндр в воду на длительное время, так как тогда может произойти сильное уплотнение почвы. Определение влагоемкости проводят в двукратной повторности. Одновременно берут две пробы для определения влажности.

Расчет полной влагоемкости песка проводят по следующей схеме.

1. Рассчитывают навеску воздушно-сухого песка, взятую в цилиндр.
2. Рассчитывают вес абсолютно сухого песка.
3. Рассчитывают вес пустого цилиндра + вес абсолютно сухого песка.
4. По разности между весом цилиндра с песком, насыщенным водой, и весом пустого цилиндра + вес абсолютно сухого песка рассчитывают количество воды, удерживаемой данной

навеской.

5. Количество удерживаемой воды рассчитывают в процентах от абсолютно сухого песка.

Подготовка сосудов. Для песчаных культур используют эмалированные или толстостенные стеклянные сосуды. Нельзя пользоваться сосудами из оцинкованного железа, так как цинк может оказать вредное действие на растения.

Существуют два типа сосудов: сосуды Вагнера и сосуды Митчерлиха. В металлических сосудах первого типа полив производится по весу до 60–70% от полной влагоемкости почвы через впаянную сбоку трубку, в стеклянных сосудах – через стеклянную трубку, вставленную в сосуд. В сосудах Митчерлиха на дне имеется продолговатое отверстие, закрытое сверху желобом.

Сосуды с почвой или песком ставят на поддонники. Полив производят сверху до тех пор, пока вода не пройдет через весь слой песка и не начнет стекать в поддонник. На следующий день полив начинают с того, что жидкость из поддонника выливают в этот же сосуд, а затем уже приливают воду.

При выращивании растений в сосудах Митчерлиха вследствие насыщенности почвы водой нередко наблюдается недостаток кислорода. Поэтому следует отдать предпочтение сосудам Вагнера.

Отбирают одинаковые сосуды, вес которых не должен различаться более чем на 100 г, моют водопроводной водой, если нужно, то и дистиллированной, а затем высушивают.

Приготавливают стекло для дренажа. Для этого куски толстостенной стеклянной посуды завертывают в плотную тряпку и разбивают молотком на куски площадью 4–8 см². Работающий обязательно надевает защитные очки. Битое стекло заливают крепкой соляной кислотой на 2–3 дня, после чего сливают ее сифоном, хорошо промывают стекло водопроводной, а затем дистиллированной водой и высушивают на воздухе, предохраняя от попадания пыли.

Подбирают одинаковые стеклянные трубки диаметром 1,2–1,7 см, длиной на 2–4 см больше высоты сосуда. Вырезают из вдвое сложенной марли круги диаметром на 5–8 см больше диаметра сосуда.

Тарирование сосудов. В наиболее тяжелый сосуд из ото-

бранных для данного опыта помещают битое стекло горкой, закрывающей около $\frac{2}{3}$ дна, вставляют трубку, кладут марлю и взвешивают. При диаметре сосудов 15 см обычно достаточно 200–250 г стекла. Если стекла мало, то в дальнейшем будет затруднен полив. Все сосуды со стеклом должны быть одного и того же веса.

Пробная набивка сосуда. Отвешивают в тазу заведомо больше, чем нужно для набивки, количество песка. Прибавляют точно измеренное количество воды (около 40% от полной влагоемкости), хорошо перемешивают, перетирая песок между ладонями рук до тех пор, пока он не будет одинаковой влажности. Трубку для полива продевают в отверстие марлевого круга и устанавливают в дренажной горке сосуда так, чтобы она находилась примерно на 2 см от края сосуда. Расправляют марлю так, чтобы она покрыла дренаж и дно сосуда. Таз с песком и сосуд ставят на большой лист гладкой бумаги. Аккуратно кладут песок в сосуд на марлю, особенно следя за правильной укладкой у стенок сосуда. Прибавляют еще песок, уплотняя его тыльной стороной кисти руки, постепенно набивают сосуд. Нижние слои песка должны быть сильно уплотнены, верхние слои уплотняют не так сильно. Уровень песка в набитом сосуде должен быть на 1,5–2 см ниже верхнего края сосуда. Если песок не будет достаточно уплотнен, то при поливе он может осесть и при этом повредить корни. Степень уплотнения песка может влиять на рост растений, поэтому большое значение имеет равномерная набивка всех сосудов. Взвешивают остаток песка, его влажность и количество прилитой к нему воды, рассчитывают количество влажного, воздушно-сухого и абсолютно сухого песка в сосуде.

Определив вес абсолютно сухого песка в сосуде, рассчитывают и приготавливают растворы отдельных солей питательной смеси. Это производят так же, как при работе с водными культурами. В рецептах питательных смесей дозы солей даются на 1 л воды или на 1 кг абсолютно сухого песка. Если вносят нерастворимые соли, то их отвешивают в пакетики. Каждый пакетик этикетуется (указываются название соли, ее вес и номер сосуда, в который она должна быть внесена).

Набивка сосудов. Заготавливают таблицу схемы опыта с указанием серий, номера сосуда и количества предназначенных

для внесения веществ.

Отвешенное для одного сосуда количество песка высыпают в большой эмалированный таз, стоящий на большом листе гладкой бумаги. Добавляют по очереди сухие навески, тщательно перемешивая песок и перетирая его между ладонями рук, затем прибавляют растворы солей и воду для увлажнения песка. Сумма миллилитров растворов солей и воды должна быть одинакова во всех сосудах. После тщательного перемешивания песка сосуд набивают так, как указано выше. В сосуд должен быть внесен весь песок из таза, а также частицы песка, упавшие на бумагу и прилипшие к рукам. При набивке сосудов одной серии можно не мыть руки и таз, но при переходе к работе с сосудами, которые должны содержать иные питательные вещества, руки и таз мыть необходимо.

При набивке большого количества сосудов для ускорения работы целесообразнее объединяться в группы по три человека. Набивку песка в сосуды производит один человек, это гарантирует равномерность набивки; второй отвешивает песок и вносит соли и воду; третий перемешивает песок с водой и солями.

Если применяют стеклянные сосуды, то после набивки их обертывают картоном (лучше выкрасить его в белый цвет). Готовые сосуды закрывают листом картона для предохранения от высыхания песка.

Посев семян. Посев производят отобранными (если нужно, то протравленными) и наклюнувшимися семенами. Для посева на определенную глубину делают сажалку: стеклянную палочку вставляют в отверстие пробки, палочка выставляется из пробки на расстояние, равное глубине посадки семян. Кроме того, готовят картонный круг, диаметр которого равен внутреннему диаметру сосуда; в картоне делают отверстия по числу высеваемых семян. Их высаживают несколько больше числа растений, которое будет расти в сосуде.

Перед посевом песок поливают небольшим количеством воды, кладут на песок картонный шаблон, делают сажалкой углубления, высаживают семена, заравнивают песок. До появления всходов сосуды закрывают картоном.

Полив растений. Вначале (несколько дней) растения поливают во всех сосудах равным количеством воды, в дальнейшем -

до 60–70% от влагоемкости абсолютно сухого песка. Зная вес абсолютно сухого песка в сосуде, рассчитывают, какое количество воды должно быть в нем. На этикетке сосуда пишут вес для полива. Он является суммой следующих величин: веса тарированного сосуда, веса абсолютно сухого песка, веса воды.

По мере роста растений к рассчитанной величине веса для полива прибавляют вес (сырой) растений в сосуде.

Ставя сосуд с растениями на весы и доливая водой до рассчитанного веса, производят полив. Часть воды дают сверху, часть – снизу через поливную трубку.

Уход и наблюдение за растениями. Ежедневно растения поливают по весу утром. По мере роста в жаркие и сухие дни растения нужно поливать дважды, внося вечером отмеренное количество воды цилиндром.

Через 7–10 дней после всходов производят прореживание, оставляя в сосуде наиболее одинаково выросшие растения.

Фенологические и другие наблюдения проводят так, как это указано в разделе «*Техника постановки водных культур*».

1.2.4 Техника постановки почвенных культур

При выборе почвы для вегетационного опыта необходимо заранее установить, на какой почве должен быть поставлен опыт для разрешения стоящей перед экспериментатором задачи, установить точное наименование почвы, указать, откуда взят образец, культурное состояние и историю участка, с которого взят образец (унавоживался ли и в какой степени, вносились ли на него минеральные удобрения, когда, какие и в каком количестве, из-под каких культур взят образец).

Нередко вегетационные опыты не дают нужных результатов вследствие неправильного выбора почвы. При неудачном взятии образца почвы может оказаться, что почва не реагирует на изучаемое удобрение. При постановке опыта по изучению фосфатных или калийных солей необходимо брать почву с участка, для которого уже имеются данные полевых опытов об отзывчивости почвы на применение этих удобрений. В крайнем случае, зная историю поля и его урожайность, можно ограничиться контрольными анализами на количество усвояемого фосфора и калия. На

опытных станциях обычно нетрудно найти участок, отзывчивость которого на внесение удобрений уже известна, но, несмотря на это, часто берут почвы с защитных полос, дорожек между делянками, т.е. с тех участков, на которые в прошлом могли сыпаться удобрения.

На поле почву берут лопатами в чистые мешки. Надо следить, чтобы во взятых для почвы мешках не было остатков удобрений: один случайно попавший комочек удобрения может испортить весь опыт. Если почву берут в большом количестве, то ее можно погружать навалом на подстеленный на машине брезент. Перевозить почву лучше всего в мешках. Количество необходимой для постановки опытов почвы определяют с учетом числа сосудов и их емкости. Так как при взятии, доставке и подготовке почвы для опытов происходят большие потери, то количество почвы, взятой в поле, должно быть не менее чем на 25% выше вычисленного на основании числа сосудов в предстоящих опытах и емкости их.

Доставку, хранение и разборку почвы надо организовать так, чтобы почва не успела высохнуть. Высыхание почвы приводит к изменению содержания в ней некоторых соединений питательных элементов, главным образом азота и фосфора. Опыт, поставленный с влажной почвой, может поэтому дать другие результаты, чем опыт, поставленный с этой же почвой, но после ее высыхания.

Время взятия в поле почвы имеет существенное значение для ее свойств. В течение летнего периода в почве происходит нитрификация почвенного азота и иммобилизация растворимых фосфатов. Поэтому почва, взятая ранней весной, будет сильнее отзываться на азот и слабее на фосфор, чем почва, взятая с того же участка летом. Такое же значение имеет предварительное парование почвы в лабораторной обстановке. При постановке опытов с формами фосфатов можно брать паровавшую почву и заготавливать ее летом для опытов будущего года. При постановке опытов с азотными удобрениями желательно брать почву ранней весной, но во всяком случае не летом с парующих участков.

Весьма часто вегетационные опыты закладывают с почвами, которые берутся с опытных делянок. Если в опыте делянки малого размера, почву приходится брать в небольшом количестве и

опыт закладывать в малых сосудах. С опытных делянок почву берут по тем же правилам, как и среднюю пробу почвы для анализа, т. е. из разных мест делянки на глубину пахотного слоя. Совершенно недопустимо брать почву с делянок, только что получивших минеральное или органическое удобрение. В этом случае свойства почвы будут целиком зависеть от того, попадут случайно во взятую почву комки удобрения или нет. Лишь после неоднократной обработки удобренного участка взятый с него образец почвы может характеризовать свойства почвенного покрова делянки.

Подготовка почвы для опытов заключается в приведении ее в однородную по своему составу и свойству массу и состоит из перемешивания почвы, пропускания ее через сито и удаления камней, корней и пожнивных остатков. В практике опытного дела принято однократное пропускание почвы через сито с отверстиями в 3 мм. Лучше брать проволочное сито (производительность его больше), чем металлическое сито с круглыми отверстиями. Операция просева производится следующим образом. Почву высыпают из мешков на сита, стоящие на стойках над брезентом. Крупные комки почвы раздавливают руками, отбирают корни, пожнивные остатки, комки и т. п. Оставшиеся на ситах включения по мере их накопления сбрасывают в сторону. Просеянную почву ссыпают в лари для хранения. В большинстве случаев такой однократной обработки достаточно, чтобы иметь удовлетворительное сходжение параллельных опытов. В тех случаях, когда желают иметь большую однородность образца почвы, перед началом опыта берут необходимое число ведер уже разработанной почвы, высыпают на чистый брезент, тщательно перелопачивают, затем равномерно распределяют по брезенту беря лопатой почву из разных мест, насыпают в ящик, из которого потом ее берут при набивке сосудов. Контролем однородности почвы может служить наличие одинаковых расхождений между урожаями в параллельных сосудах при их набивке подряд и после набивки сосудов других вариантов.

Техника набивки сосудов, посев и уход за растениями такие же, как при постановке песчаных культур. Почва как субстрат для выращивания растений естественно отличается от песка, поэтому в наполненные почвой сосуды следует до посева или сразу

после посева засыпать сверху слоем кварцевого песка не более 1 см толщиной около 200 г на сосуд среднего размера. Слой кварцевого песка сверху сосуда предохраняет почву от излишней потери влаги, уменьшая испарение воды с поверхности сосудов, и от размывания поверхности почвы при поливке сверху.

Удобрения в вегетационном опыте можно вносить или в виде растворов, или в виде порошков и гранул. Если не имеется каких-либо специальных заданий, удобрения вносят в растворе. Наиболее удобны растворы, в которых на каждые 10 см³ приходится 0,1 г питательного вещества (N, P₂O₅ или K₂O). Растворы, если их вносят менее чем по 50 см³, отмеривают пипеткой или бюреткой; при внесении 50 см³ и более для дозировки растворов можно употреблять мерные цилиндры. Величина доз удобрений зависит от темы опыта, размера сосудов и вида растения. Как правило, при постановке опытов в почвенных культурах для обеспечения нормального развития растений приходится заботиться лишь о добавке азота, фосфора и калия.

В опытах с почвенными культурами в качестве основного удобрения (фона) следует выбирать соли, не вызывающие сильных изменений свойств почвы. Удобрения, вносимые в почву в качестве фона, должны возможно меньше изменять реакцию почвы и концентрацию почвенного раствора, а также не содержать балластных веществ. Если требуется фон одного азота, можно остановиться на внесении азотнокислого аммония: последний, правда, вызывает некоторое подкисление почвы, не имеющее практического значения. При постановке опытов на кислых песчаных почвах можно рекомендовать смесь, состоящую из двух третей азота в виде NH₄NO₃ и одной трети азота в виде Ca(NO₃)₂.

Для создания фона НК можно брать смесь NH₄NO₃ + KNO₃, в которой количество KNO₃ устанавливается по потребной дозе калия.

В качестве фона NP для почв черноземного типа можно применять смесь из NH₄NO₃ и моно- и диаммонийфосфатов, являющуюся биологически кислой. Для подзолистых почв можно остановиться на смеси Ca(NO₃)₂ + NH₄H₂PO₄. т.е. физиологически кислого моноаммонийфосфата и физиологически щелочной кальциевой селитры. Для фона РК наиболее подходящей является

смесь моно- и дикалийфосфатов. Количество моно- и дикалийфосфатов в этой смеси подбирают такое, чтобы рН смеси было близко к рН почвы. Если последнее нельзя сочетать с желательными дозировками K_2O и P_2O_5 то добавку фосфатов можно делать в форме кальциевого фосфата, а калия – в виде KCl или K_2SO_4 .

Фон одного фосфата, который обычно создается в опытах с внесением натриевых фосфатов, во многих случаях рекомендовать нельзя, так как внесение в почву натрия оказывает сильное действие на эффективность калия. Поэтому часто приходится останавливаться на кальциевых фосфатах: монокальцийфосфате, дикальцийфосфате или на их смеси. Внесение натриевых фосфатов может быть рекомендовано, когда добавка натрия не влияет на результаты опытов. В этом случае интересным является применение не чистых одонатриевых и двунатриевых солей, а их смесей, дающих рН, близкий к рН почвы.

При выборе форм основного удобрения и их дозировок надо тщательно продумать, какое действие на изменение свойств почвы окажут вносимые удобрения. При неосторожном выборе форм удобрений легко получить результаты, определяющиеся не столько свойствами почвы, сколько свойствами фона.

При постановке опытов на известкованных почвах в состав фона для ряда растений – свеклы, льна, горчицы, гречихи, табака, бобовых – надо вводить бор в форме борной кислоты или буры в количестве 1 мг бора на 1 кг почвы. Без внесения бора на известкованных подзолистых почвах нельзя получить нормальное развитие этих растений. Под зерновые злаки вносить бор излишне.

Что касается доз питательных веществ, то для получения высоких урожаев растений в сосудах 20x20 см К.К. Гедройц считал достаточным 0,75 г – N, 0,5 г – P_2O_5 и 0,5 г – K_2O ; количества эти должны изменяться в зависимости от вида растения и темы опыта; применение удвоенных доз дает дальнейшее повышение урожаев.

При больших дозах вредное действие высокой концентрации солей можно уменьшить через трубку, а другую вносят поливом сверху, применяя дробное внесение удобрений, которое практикуется также в опытах по изучению времени внесения удобрений. Во время вегетации удобрения вносят при поливе в

растворенном виде. Обычно половину вносимого количества удобрений вливают на дно сосуда.

Обычно поливку растений производят, давая половину воды сверху и половину – снизу. Во многих опытах можно поливать почвенные культуры не дистиллированной, а водопроводной водой. Обычно поливку сосудов по весу производят один раз в день. В жаркие дни поливать сосуды приходится два и даже три раза в день; в этом случае один раз поливают сосуды по весу и другой – по объему, давая на каждый сосуд определенное количество воды.

Вес, до которого надо поливать сосуды, вычисляют следующим образом. Предположим, что полная влагоемкость почвы 55,0%, максимальная гигроскопичность 8,2%, поливка намечена до 60% от полезной влагоемкости. Следовательно, влажность почвы должна быть равна $(55,0 + 8,2) \cdot 0,6 = 37,9\%$.

Влажность почвы при набивке сосудов была равна 15,2%, в сосуд вошло 5 кг сырой почвы или 4,340 кг абсолютно сухой почвы. Вес тары до набивки (общий вес пустого сосуда, битого стекла, трубочки, марли и кварцевого песка, добавленного на дно сосуда) был равен 2100 г. Вес картонного чехла (если сосуд стеклянный) 60 г. Вес палочек 40 г плюс вес кварцевого песка, добавляемого сверху почвы, 200 г. Таким образом, общий вес набитого сосуда без веса воды и почвы 2400 г, вес почвы - 4340 г, вес воды – 37,9% от 4340, или 1645 г. Следовательно, сосуд надо поливать до $(2400 + 4340 + 1645) = 8385$ г; округляя, имеем 8400 г.

При поливке сосудов производят их перестановку на вагонетке для выравнивания условий освещения и нагревания солнечным светом. Если сосуды опыта стоят в два ряда, то при поливке их меняют местами. Необходимо перемещать сосуды и по длине вагонетки; для этого каждый раз два первых сосуда снимают и ставят вместо последней пары, а на их место ставят сосуды второй пары. Если в опыте много сосудов, то перестановку производят на две пары сосудов. Правильным следует считать такое размещение, когда сосуды стоят по повторностям, а не по вариантам опыта.

Контрольные вопросы

1. Расскажите о вегетационных опытах, их классификации.
2. Какие исследования можно проводить в водных культурах?
3. Какова техника проведения работ в почвенных культурах?
4. В чем особенности опытов с песчаными культурами?
5. Что такое гидропоника, каковы ее модификации?
6. Что вы знаете о питательных смесях для вегетационных опытов?

1.3 ЛИЗИМЕТРИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Лизиметрический метод, основанный на исследовании роли атмосферных осадков в трансформации почвенных компонентов и питании растений, был впервые применен английским ученым Джоном Дальтоном. Его работы относятся к концу XVIII – началу XIX в. Прибор, использованный Дальтоном для изучения водного режима почвы, был назван лизиметром (от греческого *lysos* – растворение, освобождение).

В агрохимии лизиметрические исследования применяют для наблюдения над динамикой влажности почв, просачивания атмосферных осадков, для определения состава фильтрующихся вод. Лизиметрический метод позволяет изучать динамику вымывания минеральных солей из почвы, включая компоненты минеральных удобрений.

Лизиметрические исследования позволяют вскрыть связи между питательными веществами почвы, удобрениями и растениями. Сопоставление поступления питательных веществ в почву с выносом их урожаем дает возможность подойти к установлению баланса этих веществ в почве. Кроме того, лизиметрический метод применяется для изучения изменения некоторых свойств почвы под влиянием удобрений (например, водопроницаемости), определения транспирационных коэффициентов отдельных растений (в природной обстановке). Лизиметрические установки используют также в орошаемом земледелии при изучении водного баланса, промывки засоленных почв, поливных режимов сельскохозяйственных культур. Принцип лизиметрического исследования применяют часто в лабораторных условиях для установления закономерностей передвижения воды и раство-

ренных в ней веществ через определенный слой почвы, торфа, при изучении водонепроницаемости почв, скорости фильтрации почв в зависимости от различных факторов для выявления закономерностей передвижения удобрений в почве. Все это имеет существенное значение при разработке рациональных приемов использования удобрений.

Существует несколько конструкций лизиметров, отличающихся устройством приспособлений для изучения просачивания воды и растворенных в ней веществ сквозь толщу почвы, породы или грунта под влиянием увлажнения атмосферными осадками.

Слой почвы, через который просачивается вода в лизиметре, колеблется от 20–25 см до нескольких метров, но наиболее распространенные типы конструкций лизиметров рассчитаны на работу со слоем почвы 1 м.

При устройстве и расположении лизиметров с необходимыми вспомогательными приспособлениями следует учитывать следующие обязательные требования.

1. Должна быть обеспечена возможность вести наблюдения в условиях, наиболее близких к природной обстановке. Для этого лизиметры вкапывают в грунт, и уровень почвы в них совпадает с поверхностью окружающей местности.

2. Для проведения сравнительных исследований или постановки опытов в лизиметрах по определенной схеме их устраивают группами в 10 и более, чаще всего в два ряда с некоторым расстоянием между рядами. Например, в лизиметрах иногда изучают целые севообороты. Непосредственно около лизиметров устанавливают дождемеры для учета количества выпавших осадков.

3. Для сбора просачивающихся через почву лизиметра воды на дне приборов делают дренаж, затем короткие трубопроводы, по которым стекающие воды поступают в специальные приемники, находящиеся в подземном коридоре с естественным или искусственным освещением, позволяющим вести работу круглосуточно. Подземное помещение тщательно изолируют, чтобы исключить резкие колебания температуры (особенно зимой) и попадание в него атмосферных осадков.

4. Лизиметры в зависимости от темы опыта могут быть парящими или занятыми различными растениями. В них возмож-

но выращивание и древесных пород. Располагать лизиметры надо так, чтобы обеспечить нормальное освещение растений и защиту посевов от повреждений животными и птицами. Иногда над лизиметрами делают сетки, как в вегетационных домиках.

5. Лизиметры устанавливают вблизи от лабораторий, чтобы не перевозить больших объемов жидкости и проводить срочные наблюдения в любое время суток и в любую погоду.

По способу наполнения почвой лизиметры подразделяют на два типа:

- 1) лизиметры с почвой естественного строения
- 2) лизиметры с насыпной почвой.

В последнем случае естественное строение нарушается, однако почву после просеивания для придания ей однородности, набивают послойно с сохранением естественной последовательности в расположении отдельных генетических горизонтов. При набивке уплотняют каждый слой почвы до природного объема.

По особенностям конструкции лизиметры делят на:

- 1) бетонные или кирпичные,
- 2) металлические, в частности цинковые,
- 3) лизиметрические воронки (Эбермайера).

В последние годы получают распространение лизиметры из пластика. Бетонные или кирпичные лизиметры устраивают для проведения многолетних опытов. Эти лизиметры рассчитаны на использование в течение длительного времени. Как правило, они имеют площадь поверхности в 1, 2 и даже 4 м².

Одни из первых лизиметров в России были построены в Сельскохозяйственном институте в Новой Александрии (1903 г.) по проекту П.Ф. Баракова. Они сделаны из бетона и расположены в два ряда по 12 лизиметров. Емкость каждого 1 м³ (1х1х1 м). Эти лизиметры показаны на рисунке 6. Они расположены на расстоянии 0,5 м один от другого, их передние стенки выходят в подземный коридор, и между ними поставлены бетонные стенки.

Между боковыми стенками пространство заполнено землей. Для стока просачивающейся сквозь почву лизиметра воды дно его имеет уклон в сторону передней стенки, и по дну от углов задней стенки проложены две борозды к середине нижней части передней стенки, где находится отверстие, соединенное свинцовой трубкой сечением 2 см с приемниками. Последние помещены

в подземном коридоре и могут по мере наполнения заменяться другими. Для улучшения стока на дне каждого лизиметра сделан дренирующий слой из гравия разного диаметра.

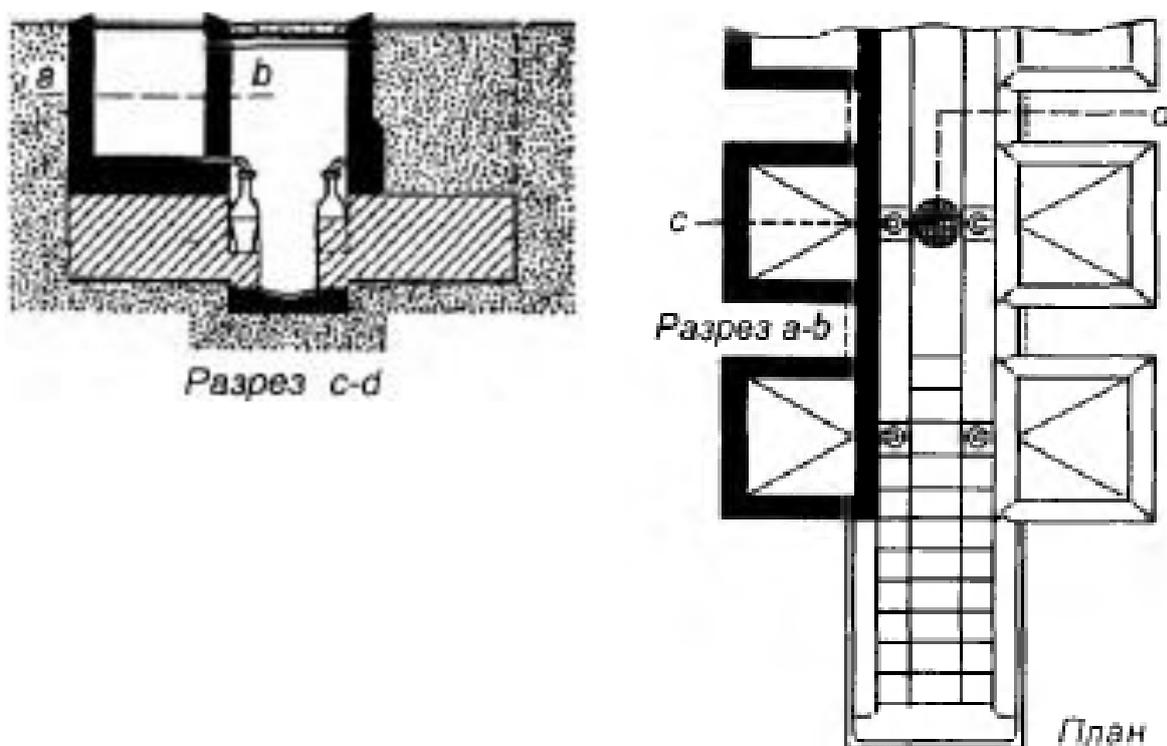


Рисунок 6 – Лизиметры Сельскохозяйственного института в Новой Александрии: *вертикальный разрез с-d, план и горизонтальный разрез по а-б*

Бетонные лизиметры пригодны для работы только с насыпной почвой. Их используют для постановки стационарных опытов с различными растениями, удобрениями и типами почв во многих научно-исследовательских учреждениях разных стран.

Металлические лизиметры бывают разной формы (цилиндр, куб, параллелепипед) и емкости. Они применяются для работы с почвами как естественного сложения, так и с насыпными. В опытах с насыпной почвой используют лизиметры цилиндрической формы и в форме параллелепипеда, сделанные из листовой оцинкованной стали, иногда изнутри покрытой асфальтовым лаком. На дне их делают, как и в бетонных лизиметрах, дренаж из гравия и песка. Наполненные почвой лизиметры либо непосред-

ственно закапывают в грунт так, чтобы поверхность почвы в них была на одном уровне с поверхностью окружающей местности, либо помещают в другой металлический цилиндр или ящик немного большего диаметра, вкопанный в грунт. В этом случае внешний служит для укрепления стенок ямы, а внутренний - собственно лизиметром.

Выемные лизиметры устраивают для того, чтобы их можно было извлекать из ямы и взвешивать. Во всех случаях в дне лизиметра сделано отверстие, соединенное системой трубок с приемником для сбора фильтрата.

Для взятия образцов почвы без заметного нарушения ее естественного строения лизиметры цилиндрической формы имеют заостренные концы у дна и врезаются в почву при их наполнении. Дно воронкообразной формы заполняют дренажным материалом и после наполнения лизиметра почвой прикрепляют к нему. Затем лизиметр переносят на постоянное место и соединяют системой трубок с приемником.

Примером может служить лизиметр А.В. Ключарева. Это тонкостенный стальной цилиндр диаметром 11 см и глубиной 20 см. Снизу к цилиндру, заполненному почвой естественного сложения, герметически прикреплено дно в форме цинковой воронки, в которой помещен дренирующий материал. Для сбора фильтрата служит делительная воронка, соединенная с прибором пробкой с трубками. Чтобы эти лизиметры поместить в грунт, в него предварительно зарывали до краев другие тонкостенные железные цилиндры высотой 50 см, открытые с обоих концов. Диаметр их был таков, что стальные цилиндры как раз входили в них. Лизиметры с почвой и воронками опускали в эти железные цилиндры и удерживали на крючках. Зазоры между железным цилиндром и лизиметром закрывали специальными цинковыми защитными щитками.

Лизиметрические воронки используют только для работы с почвами естественного строения. Эти конструкции были впервые применены Эбермайером в 1879 г. Считают, что металлические цилиндрические лизиметры при врезании в грунт все же частично нарушают естественное сложение. Этот вид лизиметра не имеет боковых стенок. Схема устройства лизиметрических воронок Эбермайера приведена на рисунке 7.

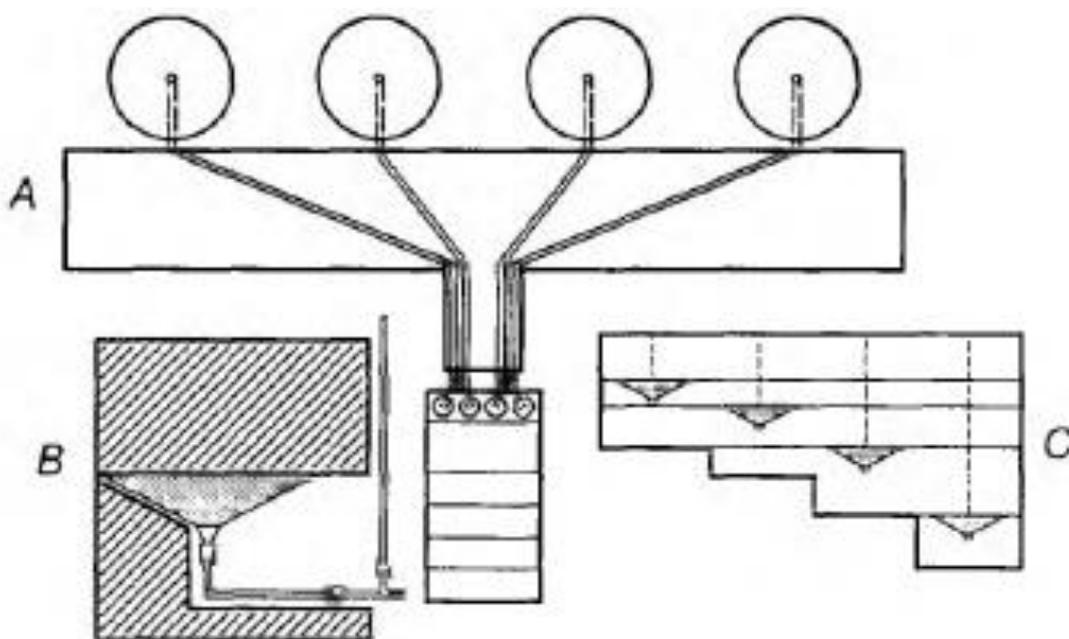


Рисунок 7 – Лизиметрические воронки Эбермайера:
 А – план, В – разрез одного лизиметра воронки,
 С – схема расположения воронок на различной
 глубине

Устройство воронок следующее. Цинковые воронки диаметром 25 или 50 см имеют глубину 5 см. Края их загнуты на 0,5 см вверх и заострены. Шейка прикрыта цинковым кружком с отверстиями 2 мм. Заполнена воронка дренирующими материалами. Для установки воронок Эбермайера вырывают достаточно глубокую траншею и на передней вертикальной стенке ее делают ниши на той глубине, на какой хотят поместить воронки. Их вводят в нишу и врезают острым краем в ее потолок. Воронки трубками соединяют с приемниками, размещенными на некотором расстоянии от ниш. Сверху траншею закрывают досками и цементируют и засыпают землей. Делают люк с крышкой, чтобы можно было спускаться в яму к приемникам. В нишах все эти пустоты снова засыпают землей. Расстояние между воронками 30–100 см.

Отсутствие боковых стенок у воронок не дает уверенности в том, что в нее будет просачиваться вода только с площади, находящейся строго вертикально над воронкой. Возможно, как зате-

кание воды со стороны, так и отток влаги на соседние участки. Поэтому, в опытах для изучения вымывания питательных веществ из разноудобренных почв нельзя ставить лизиметрические воронки на деланки с различными удобрениями близко по соседству; нужно оставлять между ними интервалы наподобие защитных полос в полевых опытах.

Водный режим лизиметров. Опыты в лизиметрах должны полностью воспроизводить условия природной обстановки. Это в полной мере относится и к водному режиму.

Одинаковый водный режим лизиметров и почв в окружающих естественных условиях может быть только в том случае, когда динамика всех категорий воды в почве лизиметра совпадает с динамикой влаги в природной почве.

Экспериментальные исследования показали, что наблюдается ряд моментов, которые отличают водный режим лизиметров от водного режима естественных почв.

Почвы в лизиметрах со стенками отличаются от естественных почв количеством осадков, попадающих на площадь, равную площади лизиметра. Так как стенки лизиметра немного выше уровня почвы в нем, то все осадки, попавшие на данную площадь, должны пройти через почву. В природных условиях, как правило, в среднем 20–25% воды сбегает с поверхности по уклонам рельефа. Следовательно, в лизиметры со стенками осадков попадает больше, чем в естественных условиях. В лизиметрических воронках этого различия не наблюдается.

Изучение поведения разных форм почвенной влаги в лизиметрах по сравнению с естественной почвой показало, что наблюдаются существенные различия в их динамике. Это связано в первую очередь с разрывом слоев почвы, обусловленным наличием дна у лизиметров. Этот разрыв приводит к появлению воздушной прослойки, которая мешает свободному движению гравитационной воды вниз. Как правило, в лизиметрах мы отмечаем избыток влажности, задержку известного количества воды и, следовательно, неполное просачивание по сравнению с тем же слоем естественной почвы.

Наблюдения показали, что просачивание воды в лизиметры зависит от их глубины. В более глубоких лизиметрах оно относительно больше, чем в мелких.

Так как количество осадков, попадающих на одинаковые по площади лизиметры, будет одно и то же, а влажность оказывается в глубоких лизиметрах большая в слоях, лежащих ближе ко дну, а у мелких лизиметров в поверхностных слоях, то испарение более интенсивно происходит с поверхности мелких лизиметров, чем с поверхности глубоких.

Следовательно, это приводит к новому различию в балансе воды в лизиметре и в естественной почве. Встречая препятствие при нормальном просачивании влаги в глуболежащие слои, какое-то количество её теряется из-за более интенсивного испарения с поверхности лизиметра, чего не наблюдается в почвах при естественных условиях их залегания.

При работе с воронками Эбермайера эти же причины еще больше снижают коэффициент просачивания, так как возрастающее капиллярное давление на уровне воронки, т.е. подпор просачивающейся сверху воды, обуславливает отток опускающихся осадков в стороны. Отсутствие в лизиметрических воронках боковых стенок у столба почвы, находящегося над воронкой, не препятствует этому оттоку влаги в стороны.

Все сказанное указывает на очень низкий коэффициент просачивания в лизиметрических воронках: он тем меньше, чем глубже находится воронка.

Количество просачивающейся влаги зависит также от:

1) способа наполнения лизиметра: просачивание идет интенсивнее в почвах, сохранивших естественное строение, так как в насыпных лизиметрах почва уплотняется;

2) свойств почвы (чем она мелкоземистее, тем меньше просачивание);

3) количества осадков и характера их распределения во времени (много осадков за короткий отрезок времени обуславливает более сильное просачивание);

4) температуры воздуха и почвы (чем выше температура, тем больше испарение и тем меньше просачивание);

5) наличия растений; в лизиметрах, занятых растениями, просачивание меньше, чем в парующих вследствие испарения влаги растениям.

Таким образом, динамика влаги в лизиметрах нетождественна с динамикой влаги в естественных почвах. Тем не менее

это не лишает ценности результаты, найденные с использованием лизиметрической методики. Следует только помнить, что абсолютные значения этих результатов будут отличаться от данных, получаемых в естественной обстановке. Однако проведение опыта по одной конкретной схеме на лизиметрах определенной конструкции позволяет иметь сравнимые относительные результаты в пределах этой схемы.

Агрохимики используют лизиметрический метод прежде всего для учета вымывания питательных веществ из почвы. Поскольку оно непосредственно связано с просачиванием, то естественно, что количества питательных веществ, найденные в опытах с лизиметрами, будут зависеть в значительной степени от конструкции лизиметра, его глубины, наличия растений, времени наблюдения и ряда других факторов, влияющих на величину коэффициента просачивания.

Контрольные вопросы

1. Что такое лизиметрические исследования? 2. Для каких целей применяют лизиметрические исследования? 3. Что вы знаете о конструкциях лизиметров? 4. Основные требования при устройстве и расположении лизиметров. 5. В чем заключается особенность водного режима в лизиметрах?

2 ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1 ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ И ДИАГНОСТИКИ В ИССЛЕДОВАНИЯХ ПОЧВ И РАСТЕНИЙ

Важную роль в изучении и диагностике факторов, определяющих экологическое состояние окружающей среды, играют физико-химические методы исследования, характеризующиеся высокой чувствительностью и репрезентативностью.

Инструментальные методы анализа становятся преобладающими в системе агрохимической службы страны и контроле загрязненности атмосферы, почвы, растений и природных вод. При этом все большее значение приобретает использование достижений квантовой механики, радиоэлектроники, полупроводниковой техники и математические методы обработки результатов на ЭВМ.

В инструментальных методах анализа применяют различного типа аналитические приборы, предназначенные для проведения основных процедур анализа и регистрации его результатов. В инструментальных методах используют физические и физико-химические свойства веществ, многие из которых специфичны и фиксируются регистрирующей аппаратурой.

При выборе способа обнаружения и количественного определения малых количеств загрязнений необходимо знать **чувствительность** метода, которая показывает минимальные пределы содержания элемента на единицу массы анализируемого материала (мгк/мл) или на единицу объема раствора (моль/л).

Чувствительность всех методов определяется двумя факторами: интенсивностью измеряемого физического свойства и чувствительностью детекторов сигнала в приборе для инструментального анализа. Малоинтенсивными свойствами являются, например, преломление светового луча и вращение плоскости поляризации света. Вследствие этого рефрактометрия и поляриметрия имеют низкую чувствительность и применяются при анализе сравнительно концентрированных растворов веществ.

Высокую интенсивность могут иметь (в зависимости от типа вещества) поглощение света растворами, линии в эмиссион-

ном спектре элементов, флюоресценция, радиоактивность и ряд других свойств. В связи с этим соответствующие виды инструментального анализа обладают высокой чувствительностью – от $1 \cdot 10^{-6}$ г у фотометрических до $1 \cdot 10^{-15}$ г у радиометрических методов. Высокая чувствительность многих методов объясняется свойствами применяемых детекторов сигнала в приборах. Например, современные фотоумножители реагируют на световые потоки с очень малой интенсивностью, а радиометрические счетчики – на отдельные элементарные частицы. Электрохимические методы имеют высокую чувствительность благодаря применению высокочувствительных регистраторов тока и потенциала (таблица 8).

Таблица 8 – Чувствительность различных методов

Метод	Предел обнаружения, г	Метод	Предел обнаружения, г
Фотометрия	$1 \cdot 10^{-6}$	Атомно-абсорбционный	$1 \cdot 10^{-10}$
Полярография	$1 \cdot 10^{-8}$	Газовая хроматография	$1 \cdot 10^{-11}$
Флюориметрия	$1 \cdot 10^{-10}$	Масс-спектрометрия	$1 \cdot 10^{-12}$
Эмиссионный спектральный	$1 \cdot 10^{-10}$	Радиометрический	$1 \cdot 10^{-15}$

Высокочувствительные методы применяют при анализе микрокомпонентов смесей, продуктов разрушения веществ и примесей. Особенно большое значение эти методы имеют в исследованиях биологических объектов.

Одним из важнейших преимуществ большинства инструментальных методов анализа является их высокая точность, а также избирательность – **селективность**, основанная на характерных свойствах молекул, функциональных группировок или атомов, которые обладают эмиссионными и абсорбционными спектрами, радиоактивностью, способностью к электрохимическому восстановлению и окислению. Например, по линиям эмиссионного спектра обнаруживают и определяют практически все элементы даже при их совместном присутствии. Эти методы широко применяются в промышленности, сельском хозяйстве и ме-

дицине как в научных исследованиях, так и в практической работе при анализе материалов сложного состава.

Обычно анализируют большое количество проб, несколько различающихся по составу, поэтому значительную роль играет воспроизводимость, т.е. близость полученных результатов к какой-то средней величине.

Оценка воспроизводимости и правильности анализа – необходимый этап при решении задач физико-химическими методами. Эти показатели зависят от различных видов погрешностей при анализах. Погрешности (ошибки) бывают грубыми, систематическими и случайными. Погрешность можно выразить в абсолютных величинах (мг, моль и т.д.) и относительных (обычно в %).

Воспроизводимость и правильность характеризуют **точность метода анализа**. Воспроизводимость измеряют отклонением отдельных результатов от среднего значения, правильность – отклонением среднего значения от истинного. Воспроизводимость – необходимый, но недостаточный признак правильности результатов. Воспроизводимость устанавливается по обычным правилам статистической обработки результатов.

Однако никакая математическая обработка результатов не может дать представление о правильности. Этот вопрос решается экспериментально, при помощи следующих приемов

- выполнения анализа другим методом;
- способом добавок, когда перед началом анализа вводят в образец точно измеренное количество вещества;
- полным анализом и учетом влияния других элементов исследования;
- параллельным анализом стандартного образца, близкого по составу к анализируемому.

Инструментальный анализ осуществляют с помощью аналитических приборов, которые можно подразделить на два типа: подготовительные и измерительные. Приборы *подготовительного* типа предназначены для подготовки пробы к проведению анализа: пробоотбора, растворения, фильтрования, разделения, гомогенизации, взвешивания, отмеривания и т.д.

Приборы *измерительного* типа в инструментальных методах рассчитаны на измерение определенных физических характе-

ристик веществ или их растворов. Результаты измерений наблюдают визуально (по отсчетной шкале), либо прибор производит их автоматическую регистрацию (на ленте самописца). По способу регистрации в связи с этим различают нерегистрирующие и регистрирующие аналитические приборы. К *нерегистрирующим*, например, относятся фотоколориметры, отсчет показаний которых проводят визуально по шкале измерительного барабана. *Регистрирующими* приборами являются ИК-спектрофотометры, некоторые марки полярографов, выдающие результаты измерений в виде спектрограмм или полярограмм на ленте самопишущего потенциометра.

При обработке результатов физико-химических измерений широко применяют статистическую или графическую обработку результатов. Концентрации веществ определяют двумя группами методов: первая из них основана на использовании стандартов веществ, вторая – на применении аналитических факторов (показателей) веществ.

Метод калибровочного графика включает подготовку серий разведений стандартного раствора вещества с известной концентрацией и замер на приборе характеристики свойств приготовленных растворов. По полученным данным строят калибровочный график. Затем измеряют характеристику анализируемого (испытываемого) раствора и по графику определяют его концентрацию. Приготовление стандартных и анализируемых растворов проводят в строго одинаковых условиях, добавляя к ним равные количества реактивов, растворителей и т.д.

Метод сравнения (метод стандарта). Метод сравнения используется в тех случаях, когда линия зависимости состав–свойство имеет прямолинейный характер и проходит через начало осей координат. На приборе замеряют характеристики свойств стандартного и анализируемого растворов. При этом отношение концентраций стандартного и анализируемого растворов равно отношению характеристик.

Метод сравнения обладает меньшей точностью, чем метод калибровочного графика (используется только одно измерение стандарта).

Пример. Стандартный раствор вещества с концентрацией C_c , равной 3%, имел поглощение A_c , равное 0,61, а анализируе-

мый раствор A_x , – равное 0,49. Используя метод сравнения, составляют пропорцию:

$$\frac{C_c}{C_x} = \frac{A_c}{A_x}$$

$$\text{Определяют } C_x = \frac{C_c \cdot A_x}{A_c} = \frac{3 \cdot 0,49}{0,61} = 2,41\%$$

Метод добавок. При методе добавок измеряют сначала свойство анализируемого раствора, затем повторяют измерения, добавив к раствору определенное количество стандарта. Если зависимость состав-свойство прямолинейна, то приращение концентрации анализируемого раствора C_c вызывает соответствующее приращение характеристики свойств f_c . Поэтому можно записать равенство

$$\frac{C_x + C_c}{C_c} = \frac{f_x + f_c}{f_c} \quad \text{или} \quad \frac{C_x}{C_c} = \frac{f_x}{f_c}$$

откуда
$$C_x = \frac{C_c \cdot f_x}{f_c} .$$

Пример. При фотометрическом анализе поглощение анализируемого раствора $A_x=0,49$, при добавке (к общему объему раствора) 1% стандарта (C_c) поглощение раствора стало равным 0,69%.

Следовательно, прирост поглощений $A_c=0,69-0,49=0,20\%$. По уравнению находим $C_x=C_c \cdot A_x/A_c=1 \cdot 0,49/0,20=2,45\%$.

Метод аналитических факторов (показателей). Этот метод основан на использовании численных значений свойства, отвечающих единице концентрации вещества. Аналитические факторы применяют в расчетах при строгом соблюдении определенных закономерностей, связывающих характеристику свойства вещества с его концентрацией в растворе. Такие закономерности установлены, например, в рефрактометрии, поляриметрии, спектрофотометрии и ряде других методов. Применяют два вида аналитических факторов: молярные показатели Γ – соответствующие молярной концентрации вещества (моль/дм³) и удельные показатели $E\%$ – соответствующие процентной концентрации вещества.

Расчет концентраций при использовании аналитических факторов значительно упрощается. Измеряют свойство раствора и делят его на фактор. При этом получают концентрацию вещества в растворе в соответствующих единицах: $C=f/F$ (моль/дм³); $C=f/F$ (в %).

Пример. В рефрактометрическом анализе часто применяют удельные рефрактометрические факторы F . Удельный фактор, соответствующий 1% КJ в растворе, равен 0,00130. При определении концентрации растворов КJ измеряют показатели преломления раствора, показатель растворителя и разницу между ними делят на значение фактора. Так, если показатель преломления раствора КJ равен 1,3447, воды – 1,3330, его концентрация равна $C=(1,3447-1,3330)/0,00130=9\%$.

Классификация методов основана на свойствах веществ, которые используют для измерений (так называемых аналитических сигналах). Различают следующие группы методов: *оптические* – основаны на измерении оптических свойств веществ и их растворов; *электрометрические* – на измерении электрических параметров растворов; *резонансные* – на использовании явления резонансного поглощения веществом электрического или магнитного поля; *хроматографические* – на *хроматографическом* методе разделения в комбинации с детекторами разделенных веществ; *масспектральный* – на измерении массы ионизированных осколков молекул веществ.

2.1.1 Физико-химические методы концентрирования и разделения веществ

Перед количественным определением элементного состава образца чаще всего выделяют некоторые или все его компоненты, используя различные методы концентрирования и разделения: центрифугирование, экстракцию, ионный обмен, хроматографию, диализ, электрофорез и др.

Центрифугирование применяют, если необходимо отделить малые количества нерастворимого вещества от жидкости. В лабораторной практике используют центрифуги двух типов: фильтрующие, предназначенные для интенсификации процесса

фильтрации и стаканные (пробирочные), применяемые для ускорения оседания взвешенного в жидкой фазе вещества.

Применение центрифуги основано на использовании центробежной силы. При быстром вращении (центрифугировании) взвешенные в жидкости частицы твердого вещества под действием развивающейся при вращении центробежной силы отбрасываются от центра и собираются на дне сосуда. В большинстве случаев центрифуги имеют от 4 до 20 гнезд. В эти гнезда вставляют специальные центрифужные пробирки с суспензией. Пробирки в центрифуге располагают попарно и симметрично одна против другой, предварительно тарируя их до равной массы путем переливания содержимого из одной пробирки в другую. Если нет весов с приспособлением для крепления пробирок, то следует сделать самому на каждой чашке технoхимических весов петли из двух отрезков медной проволоки (одинаковой массы) для удерживания пробирок. Эти петли прикрепляют к крючку на каркасе весов или к самому каркасу. Одну пробирку с суспензией, подлежащей центрифугированию, помещают в петлю на левой чашке весов. На правой чашке весов устанавливают в петле вторую пробирку с суспензией, заранее взяв несколько меньший объем, так как для уравнивания жидкости удобнее прибавлять ее по каплям, нежели отливать. Когда масса пробирок будет одинаковой, их снимают с весов и помещают в гнезда центрифуги. *Нельзя работать с неуравновешенными и несимметрично расположенными пробирками, так как можно вывести из строя центрифугу.*

Если после центрифугирования осадок достаточно прочно удерживается на дне пробирки, то находящуюся поверх него жидкость сливают, осадок взмучивают с небольшим объемом растворителя и повторно центрифугируют.

При центрифугировании в малых (ручных) центрифугах точное тарирование пробирок излишне. После центрифугирования большую часть растворителя удаляют кусочком фильтровальной бумаги. Для удаления остатков растворителя центрифужную пробирку можно присоединить к вакуумному насосу и осторожно провести отсасывание.

Экстракция (экстрагирование) – это процесс полного или частичного разделения смеси жидких или твердых веществ с по-

мощью растворителя (экстрагента), в котором составные части смеси неодинаково растворимы. Экстрагирование позволяет с минимальными потерями выделять нужные вещества из сложных смесей даже в тех случаях, когда применение других методов не дает результата из-за ничтожного содержания целевого продукта в смеси. Обычно экстрагирование предшествует кристаллизации, перегонке или другим способам очистки, но иногда оно позволяет сразу получить чистый продукт.

В качестве растворителей применяют различные вещества: воду – для извлечения из смеси тех твердых веществ, которые растворимы в ней; диэтиловый эфир, этиловый спирт, бензол, хлороформ, четыреххлористый углерод, бензин и другие органические вещества – для экстракции органических соединений.

Твердые водорастворимые вещества перед экстракцией тонко измельчают, помещают в стакан и заливают водой. Содержимое стакана перемешивают стеклянной палочкой и оставляют стоять на некоторое время, чтобы дать хорошо осесть мути. Когда жидкость над остатком станет прозрачной, ее осторожно сливают по стеклянной палочке или при помощи сифона, а оставшуюся в стакане массу снова заливают водой. Для более полной экстракции следует описанную операцию, как правило, повторять до тех пор, пока не будет окончено извлечение нужного вещества. Если извлекаемое вещество окрашено, то об окончании экстракции судят по исчезновению окраски водной вытяжки, в остальных случаях проводят пробу в последней вытяжке какой-либо характерной реакцией.

Вместо воды иногда используют растворы щелочей или кислот, если экстрагируемое вещество растворимо в них.

Жидкие вещества наиболее эффективно извлекаются в том случае, если растворитель отвечает следующим требованиям:

- не смешивается с водой и как можно меньше в ней растворяется;
- хорошо растворяет целевой продукт и плохо – примеси (или наоборот);
- легко удаляется из вытяжки или обеспечивает простое выделение экстрагируемого вещества.

Иногда используют смеси растворителей, если они обладают более высокой экстракционной способностью, чем каждый из чистых растворителей в отдельности.

Эффективность и полнота извлечения могут быть повышены также путем уменьшения растворимости целевого продукта в водном слое. Один из таких приемов, называемый высаливанием, заключается в насыщении исходного раствора нейтральной неорганической солью, например хлоридом натрия.

Экстракт, т.е. жидкость, полученную при экстрагировании, как правило, следует очищать от посторонних веществ, чаще всего кислот или оснований, захваченных растворителем при экстракции. Для этого экстракт промывают путем встряхивания его сначала несколько раз с разбавленным водным щелочным раствором (обычно соды или бикарбоната натрия) или раствором кислоты, а затем несколько раз с водой.

2.1.2 Оптические методы анализа

Эти методы основаны на прямом измерении оптических показателей анализируемых веществ, а также на изучении взаимодействия электромагнитного излучения с атомами или молекулами веществ, которое сопровождается излучением, поглощением или отражением лучистой энергии.

К *оптическим* методам относятся рефрактометрия и поляриметрия, фотометрические методы (колориметрия, спектрометрия, нефелометрия), эмиссионная пламенная фотометрия, атомно-абсорбционный и люминесцентный методы, рентгеноспектральный анализ, магнитная спектроскопия (ядерный магнитный и электронный парамагнитный резонансы).

Сочетание различных инструментальных методов при анализе веществ ведет к возникновению новых современных «гибридных» методов. Например, сочетание хроматографии с фотометрией дает хроматофотометрию. Применяется хромато-масс-спектрометрия и другие «гибридные» методы. Все более важное значение приобретают автоматические анализаторы.

Рефрактометрия основана на определении концентрации веществ по показателю преломления света на границе жидкость – стекло. Это ускоренный метод определения содержания сахаров в

плодах и овощах, поступающих для переработки; при определении жирности молока, молочных продуктов, сливочного масла. Она находит применение при изучении строения многих органических веществ и некоторых минеральных соединений. Используют обычно рефрактометр лабораторный универсальный (РЛУ) и лабораторный рефрактометр-сахариметр (РЛ), который предназначен специально для определения содержания сахарозы в растворах, соках плодов и овощей.

Поляриметрический анализ основан на измерении вращения (изменения) плоскости поляризации света оптически активными веществами. Это свойство обусловлено наличием в молекуле органического соединения хотя бы одного асимметрического атома углерода. Оптически активны многие углеводы, а также антибиотики, глюкозиды, алкалоиды, эфирные масла, некоторые другие соединения. Существуют количественные зависимости между концентрацией оптически активных веществ в растворах и направлением (или углом) вращения поляризованного света. Количественный анализ оптически активных веществ осуществляют при помощи поляриметров.

Разновидностью поляриметра является сахариметр, который снабжен шкалой, показывающей не угол вращения поляризованного света, а массовую долю α -сахарозы в растворе.

Поляриметрический анализ широко используется для определения качества сахарной свеклы как сырья в сахарной промышленности, а также для контроля технологических процессов заводского получения сахара.

Фотометрический метод основан на измерении поглощения анализируемым веществом света не строго монохроматического излучения. Такого рода измерения выполняют при помощи более простых приборов, называемых *фотоколориметрами*.

Колориметрия – один из наиболее простых методов абсорбционного анализа, основанный на измерении поглощения света окрашенными растворами. Из всех оптических методов колориметрический анализ имеет наиболее важное значение для биологических, агрохимических и экологических исследований. С помощью этого метода, отличающегося достаточно высокой чувствительностью, изучают содержание большинства микроэлементов в различных объектах. При этом определяемый ком-

понент переводят в окрашенное соединение и по интенсивности окраски раствора судят о количестве компонента.

Чтобы определить количественное содержание элемента (железа, марганца, меди) в исследуемом растворе, сравнивают окраску этого раствора с окраской «стандартного» (или «типового») раствора, концентрация определяемого элемента в которой точно известна.

Фотоэлектроколориметр КФК-2 служит для измерения абсорбционности и коэффициентов пропускания растворов в широком диапазоне длин волн (315-980 нм).

Эмиссионная спектроскопия требует «сжигания» пробы анализируемого вещества в пламени газовой горелки (~ 2000 – 3000 °С), электрической дуги (~ 5000 – 7000 °С) или высоковольтной искры (~7000 – 15000 °С). При этом образуемое вещество испаряется, диссоциирует на составляющие атомы или ионы, которые, возбуждаясь, дают излучение. Свет, излучаемый раскаленными газами или парами, проходя через призму спектрографа, преломляется и разлагается на компоненты. Поэтому экспериментатор наблюдает ряд отдельных цветных линий, составляющих вместе *линейчатый спектр*, который для каждого элемента характеризуется постоянными спектральными линиями, соответствующими лучам с определённой длиной волны и частотой колебаний. По наличию этих линий можно судить о присутствии того или иного элемента в анализируемом веществе.

Количественное определение элементов основано на измерении интенсивности характерных спектральных линий того или иного элемента, входящего в состав анализируемого вещества. При этом исходят из следующей зависимости: чем выше концентрация определяемого элемента, тем больше интенсивность его спектральных линий.

В тех случаях, когда необходимо получить фотографии спектров на фотопластинках, применяют так называемые *спектрографы*. Они позволяют более объективно оценить количественное содержание элемента, так как степень почернения линий на пластинке (так называемая *плотность почернения*) пропорциональна концентрации определяемого элемента. Количественно ее измеряют с помощью особых приборов *микрофотометров*. Концентрацию определяемого элемента находят по ка-

либровочной кривой, которую предварительно вычерчивают, исходя из интенсивности спектральных линий эталонных образцов.

Главное преимущество спектрального анализа – его высокая чувствительность и возможность определять несколько элементов при их совместном присутствии в пробе, состоящей всего из нескольких миллиграммов.

Фотометрия пламени (или эмиссионная пламенная фотометрия) – один из основных методов спектрального анализа, основанный на измерении интенсивности излучения атомов, возбуждаемых нагреванием вещества в пламени.

Исследуемый раствор распыляют (действием сжатого воздуха или кислорода) и в виде аэрозоля вводят в бесцветное пламя газовой горелки, работающей на ацетилене, водороде или на светильном газе. Если раствор содержит ионы легко возбуждаемых элементов, то в пламени возникает характерное для того или иного элемента излучение и пламя окрашивается. Интенсивность излучения, как правило, прямо пропорциональна концентрации определяемого элемента в растворе (в определённом интервале концентраций). Характерное для данного элемента излучение выделяют с помощью светофильтров на специальном приборе – *пламенном фотометре*.

Фотометрию пламени используют главным образом для количественного определения щелочных и щелочноземельных металлов.

В лабораторной практике используют как пламенные фотометры со светофильтрами, так и спектрофотометры для пламенной фотометрии.

Пламенные фотометры со светофильтрами служат главным образом для определения в растворах калия, натрия, кальция и иногда лития, т.е. для анализа объектов простого состава. Работают они обычно на низкотемпературном пламени смесей горючих газов с воздухом; распылители их снабжены специальными камерами для удержания крупных капелек аэрозоля, не испаряющихся в пламени. В нашей стране выпускают пламенные фотометры марок ФПФ-58, ФПЛ-1 и ПФМ.

Спектрофотометры для пламенной фотометрии более чувствительны и обеспечивают высокую монохроматизацию излучения. Они снабжены специальными горелками для сжигания сме-

сей горючих газов с кислородом, причём газы смешиваются у выхода из сопла, а анализируемый раствор впрыскивается непосредственно в пламя. Примером спектрофотометра для пламенной фотометрии может служить прибор ПАЖ-1.

Эмиссионный пламенно-фотометрический анализ широко применяют при агрохимических и почвенных исследованиях, в химической промышленности, биологии, медицине. В агрохимической службе метод используют главным образом для определения содержания калия, натрия, магния, кальция, стронция, бария, марганца, меди.

В люминесцентном (флуоресцентном) анализе используется свечение исследуемого объекта, возникающее под действием ультрафиолетовых, рентгеновских или радиоактивных лучей (фотолюминесценция, рентгенолюминесценция, радиолюминесценция). Те же вещества, которые не люминесцируют, обрабатывают специальными реактивами. Люминесцентный анализ все шире применяют в сельском хозяйстве, биологии, медицине, в пищевой и фармацевтической промышленности.

Абсорбционный спектральный анализ основан на изучении *спектров поглощения* анализируемых веществ, которые определяются их природой и концентрацией в растворе.

У веществ, в зависимости от их природы, наиболее ярко выраженные полосы поглощения располагаются в разных областях спектра: в ультрафиолетовой (длина волн 200–400 нм), видимой (400–700 нм) и инфракрасной (300–2500 нм). Соответственно этому абсорбционные спектральные определения производят в ультрафиолетовой, видимой и в инфракрасной областях спектра.

Абсорбционный анализ подразделяют на атомную и молекулярную спектроскопию. Спектрофотометрия изучает поглощение анализируемым веществом света с определенной длиной волны, т.е. поглощение монохроматического излучения. *Спектрофотометры* снабжены оптической системой (монохроматором), дающим монохроматический поток световой энергии для выполнения анализа.

Из аппаратуры отечественного производства наиболее распространены спектрофотометры типа СФ-16 и СФ-26. Наиболее распространенная модификация спектрофотометров – колориметров типа «Спекол» фирмы «Чейс».

Атомно-абсорбционная спектрофотометрия – это универсальный метод определения следов большинства металлов (и некоторых неметаллов).

К настоящему времени описаны методы атомно-абсорбционного определения 76 элементов в образцах материалов различного происхождения.

В агрохимической службе атомно-абсорбционный анализ используют для определения обменных ионов натрия, калия, кальция и магния в почвах после извлечения 1 М раствором хлорида аммония, а также кальция и магния после экстракции из почвы 0,5 М раствором уксусной кислоты.

При экологических исследованиях изучают загрязнения почв свинцом и никелем, определяют полное содержание минеральных веществ в почвах, содержание следов металлов в промышленных сточных водах.

В растительных материалах (после мокрого или сухого озоления) атомно-абсорбционным методом определяют содержание железа и магния, а также микроэлементов цинка, меди, марганца.

В пищевых (и кормовых) продуктах металлы могут присутствовать как в виде полезных минеральных веществ, так и в виде соединений нежелательных токсичных элементов. Атомно-абсорбционный анализ используется для определения содержания свинца и меди в мясе и мясных продуктах, цинка, ртути и мышьяка в пищевых и кормовых продуктах растительного происхождения. Следы металлов определяют во фруктовых соках и напитках, в природных водах.

Нейтронно-активационный метод представляет собой разновидность радиоактивационного анализа и основан на активации одного (или нескольких) элементов в используемом образце бомбардировкой их атомов нейтронами с последующей идентификацией и количественным определением изотопов. При этом для идентификации и измерения концентрации активируемых изотопов служит регистрация излучений. Анализируемые образцы и эталоны помещают в реактор, облучают их в течение определенного времени, выключают источник нейтронов, вынимают образцы и эталоны, выполняют радиометрические измерения. Активность радиоизотопа в облученном нейтронами образце сопоставляют с активностью эталона того же элемента, облученно-

го в идентичных условиях. Нейтронно-активационный анализ считают одним из наиболее точных методов определения большинства элементов.

К перспективным относится также **рентгеноспектральный радиометрический метод** – ядерно-физический неdestructивный способ определения элементного состава почвенных и растительных материалов. Метод основан на выделении и регистрации характеристического рентгеновского излучения, эмитируемого анализируемыми элементами в результате возбуждения их радиоактивными нуклидами. Рентгеноспектральный радиометрический метод используют для определения биофильных элементов: азота, углерода, а также калия, кальция, серы и хлора.

2.1.3 Электрохимические методы анализа

Электрохимические методы анализа основаны на изменении электрохимических свойств анализируемых образцов. К этой группе методов относят потенциометрию, кондуктометрию и полярографию.

Потенциометрия основана на измерении потенциала электрода, погруженного в раствор при условии, что величина потенциала зависит от концентрации определенных ионов в этом растворе. Например, значение потенциала серебряного электрода, погруженного в раствор нитрата серебра, меняется по мере изменения концентрации катионов серебра в растворе; потенциал водородного электрода – от концентрации ионов водорода и т.д. Эта зависимость позволяет определять содержание тех или иных ионов в растворе, измеряя потенциал электрода, погруженного в раствор соли неизвестной концентрации (так называемого *индикаторного электрода*). Величину потенциала электрода сравнивают с потенциалом второго электрода гальванической цепи – так называемого *электрода сравнения* (чаще всего хлорсеребряного; ионселективного электрода (пример – NO_3^-), используемых в экологических исследованиях и рН-метрии; современные потенциометры (рН-метры); потенциометрическое титрование; окислительно-восстановительные потенциалы).

Кондуктометрия основана на том, что при определенной температуре электрическая проводимость раствора приближи-

тельно пропорциональна концентрации электролита. При анализе на основании опытных данных строят график зависимости между электрической проводимостью исследуемого раствора и его концентраций, по которому находят концентрацию определяемого вещества.

Например, электрическая проводимость изменяется прямо пропорционально концентрации $\text{Ca}(\text{OH})_2$ в растворе. В данном случае зависимость между электрической проводимостью раствора и содержанием $\text{Ca}(\text{OH})_2$ выражается на графике прямой линией. Поэтому, чтобы определить содержание $\text{Ca}(\text{OH})_2$ в растворе неизвестной концентрации, достаточно измерить электрическую проводимость этого раствора и по графику найти концентрацию гидроксида кальция.

Полярография основана на том, что испытуемый раствор подвергают электролизу в ячейке прибора *полярографа*, который автоматически записывает так называемую вольт-амперную кривую, показывающую изменение силы диффузного тока с повышением напряжения. По ее характеру судят о присутствии тех или иных катионов в растворе и об их количественном содержании. При этом возможно одновременное определение в растворе нескольких ионов без их разделения.

Полярографию применяют не только для непосредственного определения концентрации анализируемого вещества, но и для определения конечных точек при титровании. С помощью полярографии в технических образцах определяют примеси металлов порядка 0,001% с точностью до 1%.

Электрохимические методы применяют для определения точки эквивалентности в титриметрических методах анализа по изменению физических свойств раствора в тех случаях, когда нет подходящих индикаторов или при темной окраске раствора, а также невыраженности скачка титрования. В связи с этим замечают физические свойства титруемого раствора. В процессе титрования снижается концентрация определяемого вещества, что ведет к изменению соответствующего физического свойства. В точке эквивалентности свойство перестает изменяться в связи с исчезновением определяемого вещества. Такие методы называют *физико-химическим* или *инструментальным титрованием*. Чаще всего используют *потенциометрическое* (по измерению скачка

потенциала) и *кондуктометрическое* (по измерению электропроводности). При этом применяют метод графического анализа кривых титрования или автоматизированные системы.

Ионометрический метод. В последние годы успешно развивается направление физико-химического анализа – ионометрия, основное назначение которого состоит в изучении и разработке различного рода ионоселективных электродов, т.е. чувствительность по определенным катионам и анионам. Для создания новых типов электродов применяют широкий набор таких электрохимически активных веществ, как жидкие и твердые иониты, моно- и поликристаллы, синтетические мембранно-активные комплексоны и другие соединения относительно тех или иных ионов. Число электродов, избирательно взаимодействующих с ионами, составляет более двух десятков. Сюда следует отнести газовые и ферментативные электроды, позволяющие контролировать содержание в газовой фазе CO_2 , NH_3 , SO_2 , NO , NO_2 , H_2S , HF , HCN и органические вещества.

Концентрации, доступные измерению ионоселективными электродами, лежат в области от нескольких моль/л до 10^{-6} моль/л, а объем раствора, необходимый для анализа, может составлять 0,05–0,1 мл.

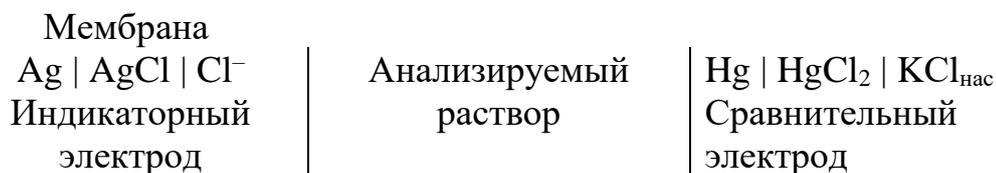
В зависимости от типа мембраны ионоселективные электроды можно разделить на две группы: твердые электроды (гомогенные и гетерогенные) на основе ионообменных смол, стекол, осадков, моно- и поликристаллов и жидкие электроды на основе жидких ионитов, хелатов (нейтральные переносчики, биологически активные вещества), выполненные в виде полимерных пленок, содержащих мембрано-активное вещество.

Принцип метода. В основу ионометрического анализа положено измерение активности (концентрации) ионов в растворе с помощью соответствующего ионоселективного электрода.

Аналогично определению величины рН ($\text{pH} = -\lg a_{\text{H}^+}$) может быть рассчитан отрицательный логарифм активности ряда других ионов: $\text{pX} = -\lg a_{\text{X}}$, где $\text{X} = \text{H}^+$; Na^+ ; K^+ ; Ag^+ ; NH_4^+ ; Ca^{2+} ; NO_3^- ; Cl^- ; S^{2-} и т.д.; a_{X} – активность соответствующего иона в растворе.

Для измерения величины рХ используется электродная система с ионоселективным индикаторным электродом, потенциал

чувствительного элемента которого по отношению к сравнительному электроду зависит от активности анализируемого иона в растворе:



ЭДС такого элемента является функцией активности исследуемого иона в анализируемом растворе и описывается уравнением Нернста:

$$E = E_0 \pm 2,3 \cdot \frac{RT}{Fn} \cdot pX ,$$

где E – суммарный потенциал электродной системы, мВ;

E_0 – постоянный потенциал, зависящий о выбранных индикаторного и сравнительного электродов , мВ;

R – универсальная (молярная газовая постоянная) газовая постоянная, равная 8,314 Дж/М·К; T – температура раствора, °К;

F – число Фарадея (96484 Кл/моль);

n – валентность определенного иона: 1,2 или 3.

Знак «+» перед вторым членом уравнения соответствует измерению анионов, а знак «-» – измерению катионов.

При измерении активности одновалентных ионов изменение концентрации растворов в 10 раз приводит к изменению потенциала на 59,2 мВ (при температуре раствора 25 °С); то же изменение концентрации при определении двухвалентных ионов приводит к изменению потенциала лишь на 29,6 мВ.

Ионоселективные электроды.

Электроды с твердой мембраной. Ионоселективные электроды с твердой мембраной представляют собой моно- или поликристаллы труднорастворимых в воде солей. В этих мембранах обычно один из двух составляющих соль ионов способен под действием электрического поля перемещаться в кристаллической решетке по ее дефектам. Примерами кристаллических электродов могут служить системы с мембранами из солей галогенидов серебра, которые обладают полной проводимостью, осуществляемой ионами серебра. В то же время такая мембрана обладает и

активной проводимостью за счет Cl^- (Br^- , I^-), который закреплен в кристаллической решетке.

Электрохимическую систему, состоящую из мембраны-пластинки кристалла труднорастворимой соли BX , разделяющей приэлектродный (стандартный) и анализируемый растворы можно представить в виде:



Вследствие незначительной растворимости соль BX присутствует по обе стороны мембраны, образуя насыщенные растворы. За счет различия в активностях анионов X^- и катиона B^+ в приэлектродном и анализируемом растворах между ними возникает разность потенциалов, отвечающая изменением на изменение активности любого из ионов труднорастворимой соли BX .

Кристаллические мембраны отличаются очень высокой селективностью, превышающей селективность жидкостных мембран. Это связано с тем, что селективность у твердых кристаллических мембранных электродов достигается за счет вакансионного механизма переноса заряда, при котором вакансии заполняются только определенным подвижным ионом.

Электроды с жидкой и пленчатой мембранами. Жидкие мембраны – это растворы в органических растворителях ионообменных веществ (жидкие катионы или анионы) или нейтральных хелатов, отделенные от водных растворов нейтральными пористыми перегородками (полимерными, керамическими или др.). Поры нейтральной перегородки заполняют органическим или водным раствором, что обеспечивает электролитический контакт фаз. Такая мембрана обычно остается долгое время достаточно стабильной. Схема действия жидкой мембраны представлена на рисунке 8.

В зависимости от типа электродно-активного вещества различают анионные, катионные и нейтральные (хелатные) жидкие мембраны, особенно высока селективность последних, и среди них особое место занимают мембраны на основе валиномицина.

Селективность жидких мембран определяется, в первую очередь, избирательностью комплексообразования или обмена ионов между мембраной и раствором.

Электроды на основе жидких катионов. Кальций-селективный электрод работает на основе кальциевых солей, диэфиров фосфорной кислоты.

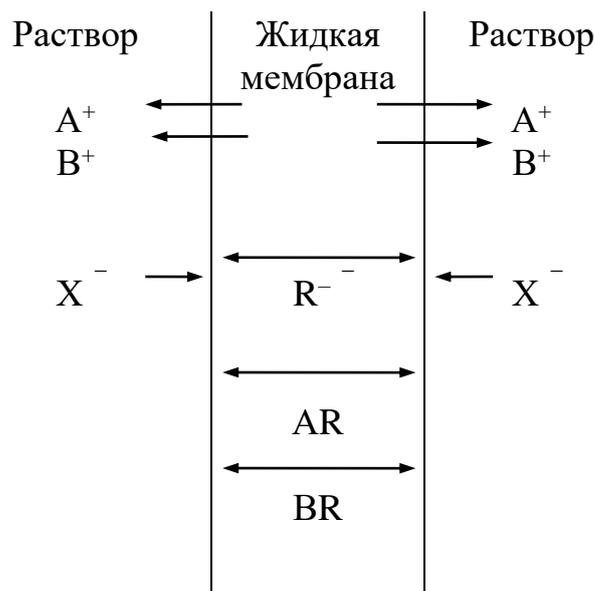


Рисунок 8 – Схема жидкой мембраны

В электроде использован раствор соли додецилфосфорной кислоты в диоктилфенилфосфонате.

Этот электрод функционирует в концентрированном интервале $10^{-1} - 10^{-5} \text{M Ca}^{2+}$ при $\text{pH}=6-11$ и обладает следующими коэффициентами электродной селективности, показывающими, во сколько раз концентрация мешающего иона (Mg, NH_4 , Na) должна превышать концентрацию основного иона (Ca), чтобы она оказала влияние на потенциал Ca^{2+} -селективного электрода: $K_{\text{Ca/Mg}} = 1 \cdot 10^{-2}$; $K_{\text{Ca/NH}_4} = 6 \cdot 10^{-3}$; $K_{\text{Ca/Na}} = 1,6 \cdot 10^{-3}$. Скорость установления потенциала Ca^{2+} -электрода этого типа измеряли по времени достижения равновесного значения потенциала с точностью 2 мВ после быстрого изменения активности ионов Ca^{2+} в растворе. Это время для чистых растворов составляет 2 с. Электрод с Ca^{2+} -функцией действует в присутствии поверхностноактивных веществ (ПАВ), анионов гуминовой кислоты, салицилата, фталата, резорцинового спирта, фенола, мочевины и других органических оснований.

Электроды на основе жидких анионитов.

Нитрат-селективный электрод. Если для ряда анионов (галогенов, сульфатов) уже давно применяются твердые электроды, то для нитрата, перхлората, некоторых органических анионов

ионоселективные электроды созданы лишь в последние годы. NO_3^- -электрод широко применяют в биологии, почвоведении, сельском хозяйстве, промышленности для анализа воды и сельскохозяйственной продукции. В первые жидкий NO_3^- -электрод получен с мембраной, содержащей положительно заряженный комплексный анион переходного металла (Ni^{2+} , Fe^{2+}) с хелатными группами о-фена-нтролина.

Для получения жидкой мембраны NO_3^- -электрода применяют соль комплексного катиона с анионом NO_3^- , растворенную в органическом растворителе. Значения коэффициента селективности NO_3^- -электрода для некоторых ионов, присутствующих в анализируемом растворе, следующие:

Влияющий ион X:	ClO_4^-	I^-	NO_3^-	NO_2^-	HCO_3^-	Cl^-	SO_4^{2-}	H_2PO_4^-
$K_{\text{NO}_3/\text{X}}$	10	20	1	$6 \cdot 10^{-2}$	$2 \cdot 10^{-2}$	$6 \cdot 10^{-3}$	$6 \cdot 10^{-4}$	$3 \cdot 10^{-4}$

Электроды на основе мембранно-активных комплексов «нейтральных переносчиков».

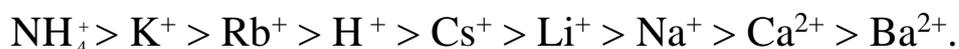
Калий селективный электрод. В валиномициновых K^+ -электродах пленочного типа используются мембраны, полученные из раствора поливинилхлорида в циклогексане с добавлением валиномицина, растворенного в дибутилфталате или в дифениловом эфире. Последний имеет следующие селективные характеристики:

Влияющий ион X:	Rb^+	NH_4^+	H^+	Na^+ , Ca^+	Li^+	Mg^{2+}
$K_{\text{K}^+/\text{X}^+}$	1,9	$1,2 \cdot 10^{-2}$	$5,4 \cdot 10^{-4}$	$2,6 \cdot 10^{-4}$	$2 \cdot 10^{-4}$	$1,8 \cdot 10^{-4}$

Валиномициновый электрод обладает K^+ -функцией в интервале концентраций от 10^{-1} до 10^{-5} М и имеет сопротивление 1 Мом.

Аммоний-селективный электрод. Селективность по отношению к иону аммония проявляется у мембран с нактиновыми антибиотиками (ионактин, монактин, динактин и др.). Она осно-

вана на способности нактиновых антибиотиков к образованию комплексов с катионами щелочных и щелочноземельных металлов. наиболее прочные комплексы дает ион NH_4^+ в соответствии со следующим рядом катионов по уменьшению констант устойчивости их компонентов:



При этом проницаемость таких мембран изменяется от катиона к катиону так же, как способность к комплексообразованию.

Мембрана NH_4^+ -электрода заполнена насыщенным раствором ионактина (72%) и монактина (28%) в три- (2-этилгексил) - фосфате. Коэффициенты селективности: $K_{\text{NH}_3^+/\text{K}} = 1,2 \cdot 10^{-1}$ и $K_{\text{NH}_3^+/\text{Na}} = 2 \cdot 10^{-3}$ позволяют применять эти электроды для определения концентрации ионов NH^+ в ряде биологических жидкостей.

Газовые и ферментные электроды. Особое место в потенциометрических методах анализа принимают газовые (газочувствительные) и ферментные электроды. Существенное различие последних от ионоселективных – использование промежуточной реакции, в результате которой из молекул определяемых веществ образуются ионы, концентрация которых может быть измерена соответствующим ионоселективным электродом.

Газовый электрод включает ионоселективный и сравнительный электроды, контактирующие с небольшим объемом вспомогательного (при-электродного) раствора, который отделен от исследуемого раствора газовой прослойкой или гидрофобной газопроницаемой мембраной. По существу газовые электроды – это гальванические элементы, содержащие не только индикаторный электрод (как правило, рН-стеклянный), но и сравнительный.

Наибольшее применение в газовых электродах нашли водородные электроды, но могут быть использованы и другие ионоселективные.

Принцип определения углекислого газа CO_2 -электродом сводится к следующему: рН-чувствительный электрод и электрод сравнения погружены в раствор электролита, который отделен от внешней среды гидрофобной мембраной, проницаемой для углекислого газа, но и не проницаемой для ионов и мало проницае-

мой для паров воды. В качестве электролита используется тонкий слой раствора бикарбоната натрия. Углекислый газ диффундирует из внешней среды через газопроницаемую мембрану в слой электролита на H^+ -чувствительной мембране до тех пор, пока проницательное давление газа в слое электролита не станет равно его давлению во внешней среде. При этом происходит изменение величины рН электролита вследствие растворения углекислого газа и последующей диссоциации образовавшейся угольной кислоты. Количественно зависимость потенциала рН-чувствительного электрода от концентрации углекислого газа в анализируемой среде выражается уравнением:

$$E = E_0 + 2,3 RT/F \cdot \lg[CO_2],$$

где R – газовая постоянная; T – температура, °К; F – число Фарадея. При 25°С величина $2,3 RT/F$ равняется 59 мВ.

Ферментные электроды – новый тип электрохимических систем в ионо-метрии. Они сочетают селективность и чувствительность энзимных методов анализа со скоростью и простотой измерений, присущих ионометрическому методу.

Ферментный электрод представляет собой датчик с ионоселективным электродом, покрытым слоем, содержащим фермент, который катализирует реакцию с образованием ионов, обуславливающих отклик электрода. В настоящее время понятие «ферментный электрод» несколько расширилось, так как в него включают электрохимические системы с ферментом, иммобилизованным не только на чувствительном элементе ионоселективного электрода, но и на носителе, расположенном на некотором расстоянии от него.

Ферментный электрод можно использовать для определения концентрации не только продуктов ферментативной реакции вещества, что особенно важно для многостадийных реакций, а также для определения активности фермента, концентраций его ингибиторов и активаторов. Применение ферментных электродов расширило рамки ионометрии, позволит определять концентрацию недиссоциированных соединений и проводить анализ водных растворов многих органических соединений.

Важное свойство ферментов, обеспечивающее их применение

ние в ионометрии – уникальная специфичность по отношению к ферментативной реакции и к субстрату. Каждый фермент катализирует только один тип реакции; каталитическая активность фермента максимальная для определенных условий среды – оптимальных значений рН, температуры, окислительного потенциала.

В качестве электрохимических датчиков, входящих в состав ферментных электродов, получили применение многие ионоселективные электроды: стеклянный для измерения рН, стеклянные катионо-чувствительные, поликристаллический цианидно-аммониевый с жидкой и пленочной мембранами и др. Из газовых использованы CO_2 - и NH_3 -электроды.

Новое направление в развитии ферментативных электродов – использование вместо очищенных ферментов живых бактериальных клеток. Так, в NH_3 -электродах на L-аргинин и L-аспартат, определяемых с помощью NH_3 -газового электрода, живые бактериальные клетки нанесены на газопроницаемую мембрану. Это позволило полностью сохранить активность фермента, образующегося непосредственно в мембране, и упразднило трудоемкую стадию его выделения и очистки. Время службы такого ферментного электрода можно продлить путем восстановления бактериальных клеток при хранении электрода в питательной среде.

Устройство электродов. Конструкция электродов прежде всего определяется типом мембраны. В твердых электродах мембрана либо гомогенна (монокристалл, сплав солей, стеклянная мембрана, мембрана, спрессованная из порошка соли), либо гетерогенна – кристаллическое вещество вводится в инертную матрицу, придающую мембранам прочность. Твердая, содержащая кристаллическое вещество мембрана приклеивается к трубке из инертного материала (поливинилхлорид, полистирол, стекло и т.д.). Внутри трубки находится электрический контакт (рисунок 9, а).

В основе ионоселективных электродов жидкостного типа лежат мембраны, электродно-активное вещество которых растворено в органическом растворителе, не смешивающемся с водой. Жидкостные электроды подвержены влиянию различных химических и физических факторов.

Пленочные электроды, мембрана которых представляет собой полимерную пластифицированную пленку с веденными в нее раствором жидкого ионита или хелата в органическом растворителе, не смешивающемся с водой. Этот растворитель одновременно служит и пластификатором.

В пленочных электродах в качестве матрицы чаще всего используют поливинилхлорид, однако применяют и другие материалы, в частности, ацетилцеллюлозу.

Электроды изготавливают путем приклеивания дисков, вырезанных из мембраны, к торцу поливинилхлоридных трубок того же диаметра, что и диски. Клеем служит раствор поливинилхлорида в циклогексане. Электрод заполняют стандартным раствором, в который погружают сравнительный внутренний электрод (рисунок 9, в).

После вымачивания в 0,1 М растворе соответствующего электролита в течение 1-2 суток электрод готов к применению. Хранить электрод рекомендуется в растворе, концентрация которого близка к концентрации определяемого иона в следующем растворе. Срок жизни пленочных мембран колеблется от 2 до 12 месяцев в зависимости от природы жидкого ионита, и условий применения.

Оригинальная конструкция пленочного NO_3^- -чувствительного проточного электрода (рисунок 9, д) используется при выполнении массовых агрохимических анализов.

Основой газочувствительных электродов (рисунок 8, з) служит стеклянный рН-чувствительный электрод. Электродом сравнения является хлор-серебряный электрод, представляющий собой стеклянный электрод, на боковую поверхность которого нанесен методом химического серебрения тонкий (0,1 мм) слой серебра, окружающий H^+ -чувствительную часть электрода. К слою серебра припаян токоотводящий проводник. Слой серебра, нанесенный на стеклянный электрод, необходимо хлорировать электрохимическим методом. Вся металлическая поверхность датчика изолируется силиконовым клеем. На H^+ -чувствительную мембрану и хлор-серебряный электрод сравнения нанесен тонкий слой электролита, который покрыт газопроницаемой мембраной, приклеенной к стеклянному электроду. В качестве электролита используются различные растворы солей в зависимости от анали-

зируемого газа.

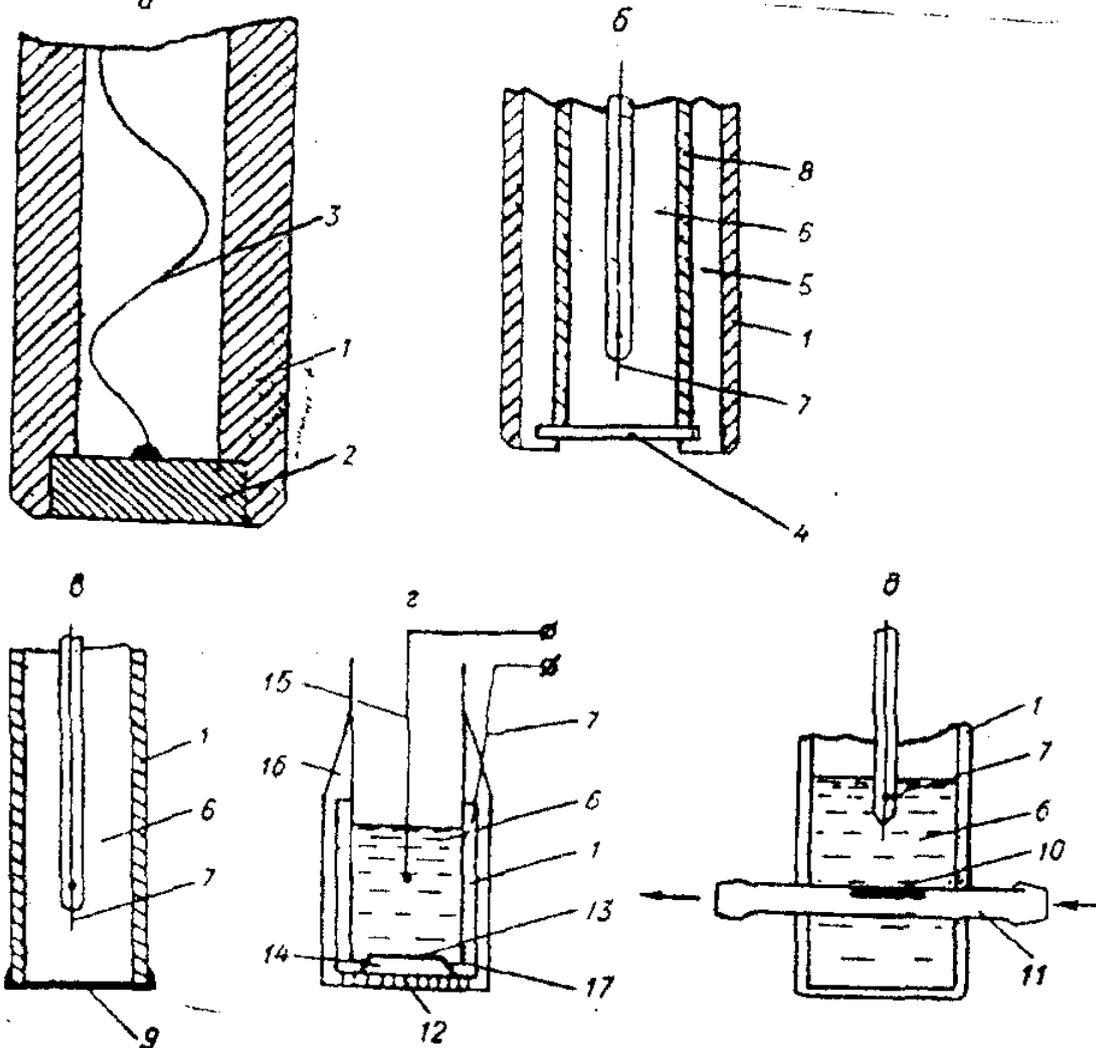


Рисунок 9 – Ионоселективные электроды с твердой (а), жидкой (б), пленочными мембранами (в), газочувствительный (г) и проточный (д) и электроды 1 – корпус электрода; 2 – кристаллическая мембрана; 3 – электрический проводник; 4 – пористая мембрана, насыщенная жидким ионообменником; 5 – жидкий ионообменник; 6 – электродный раствор; 7 – вспомогательный электрод; 8 – корпус вспомогательного электрода; 9–10 – пленочная ионоселективная мембрана; 11 – корпус проточного электрода; 12 – газопроницаемая мембрана; 13 – мембрана стеклянного электрода; 14 – электролит; 15 – стеклянный электрод; 16 – силиконовая изоляция; 17 – хлор-серебряный электрод.

Оригинальная конструкция пленочного NO_3 -чувствительного проточного электрода (рисунок 9, д) используется при выполне-

нии массовых агрохимических анализов.

Основой газочувствительных электродов (рисунок 9, з) служит стеклянный рН-чувствительный электрод. Электродом сравнения является хлор-серебряный электрод, представляющий собой стеклянный электрод, на боковую поверхность которого нанесен методом химического серебрения тонкий (0,1 мм) слой серебра, окружающий H^+ -чувствительную часть электрода. К слою серебра припаян токоотводящий проводник. Слой серебра, нанесенный на стеклянный электрод, необходимо хлорировать электрохимическим методом. Вся металлическая поверхность датчика изолируется силиконовым клеем. На H^+ -чувствительную мембрану и хлор-серебряный электрод сравнения нанесен тонкий слой электролита, который покрыт газопроницаемой мембраной, приклеенной к стеклянному электроду. В качестве электролита используются различные растворы солей в зависимости от анализируемого газа.

В качестве иономеров можно использовать приборы рН - метр - милливольтметр, рН-121, рН-340, универсальный прибор иономер ЭВ-74, переносной иономер И-102, И-115, И-120, И-500 и др.

Эти приборы служат для определения в них активности одновалентных и двухвалентных ионов NH_4^+ , Ca^{2+} , H^+ , Na^+ , K^+ , Ag^+ , I^- , CN^- , Cl^- , Br^- , S^- , NO_3^- , а также для измерения окислительно-восстановительного потенциала. Определение ионов можно вести в различных, илов, удобрений, растительной продукции.

2.1.4 Масс-спектрометрия

Масс-спектрометрия заключается в определении отдельных ионизированных атомов, молекул или радикалов после разделения потоков, содержащих частицы с различным отношением массы к заряду (m/c). Разделение этих частиц происходит под действием электрического и магнитного полей. Для распыления и ионизации анализируемого вещества используют искровой вакуумный разряд, пучки электронов или лазерных лучей.

В приборах *масс-спектрометрах* газообразный исследуемый образец бомбардируют чаще всего потоком электронов, в

результате чего образуется ионизированные молекулы или свободные радикалы. Полученный набор положительно заряженных частиц извлекают из потока газа при помощи электрода, на который подается ускоряющее напряжение. При этом частицы разделяются в соответствии с отношением массы их ионов к заряду.

Масс-спектрометр автоматически регистрирует распределение заряженных частиц по массам и интенсивность соответствующих им пиков на спектрограмме. Так получается масс-спектр, дающий разнообразную информацию о молекулах, введенных в прибор. Изучая такой масс-спектр, можно определять формулы соединений, молекулярные массы, расшифровывать их структуру. Масс-спектрометрия используется как для качественного, так и для количественного анализа индивидуальных соединений.

В аналитической химии успешно применяют искровую масс-спектрометрию, отличающуюся сверхвысокой чувствительностью, позволяющей анализировать микроэлементный состав природных веществ, а также особо чистых минералов, используемых в атомной, полупроводниковой и лазерной технике.

С помощью искровой масс-спектрометрии в одном образце анализируемого вещества (массой в несколько миллиграммов) удается определять до 70–75 основных и примесных элементов.

2.1.5 Электронный парамагнитный резонанс (ЭПР)

Электронный парамагнитный резонанс (ЭПР) основан на измерении резонансного поглощения электромагнитных волн частицами парамагнитных веществ в постоянном магнитном поле (открыт Е.К. Завойским в 1944 г.).

Парамагнитными называют вещества, молекулы которых содержат неспаренные электроны, имеют соответственный магнитный момент и втягиваются в магнитное поле (в отличие от диамагнитных, которые магнитным полем выталкиваются).

Магнитные свойства появляются вследствие вращательного движения электронов, так как движущийся электрический заряд создает магнитное поле. При этом любая частица с неспаренным электроном (атом, ион, свободный радикал) уподобляется маленькому магниту. Движение электрона в атоме вызывает появление орбитального магнитного момента, а спин (вращение элек-

трона вокруг собственной оси) создает спиновой магнитный момент. В этой сложной системе магнитных моментов суммарный магнитный момент равен нулю, магнитные свойства вещества не проявляются. Но они начинают проявляться в постоянном магнитном поле.

Спектры ЭПР изучают с помощью приборов – *радиоспектрометров*. Спектроскопия электронного парамагнитного резонанса применяется для исследования твердых, жидких и газообразных веществ. Используют спин-меченые реагенты, диагностируют ионы переходных металлов – меди, марганца, кобальта и других.

2.1.6 Хроматографические методы анализа

В 1903 г. ученый М.С. Цвет открыл и использовал новый метод разделения растительных пигментов, сущность которого заключается в следующем: при фильтрации через слой адсорбента раствора, содержащего несколько веществ, они задерживались колонкой неодновременно и образовывали отдельные окрашенные зоны, которые наблюдались визуально. Промыванием тем или иным растворителем зоны разделялись и передвигались вниз по колонке с определенной скоростью. «Хроматография» в переводе с греческого – «цветописание». Впоследствии этот метод применили и к бесцветным материалам.

Хроматография основана на том, что даже близкие по составу или строению вещества различно поглощаются сорбентами. Когда компоненты смеси окрашены, получающаяся хроматограмма позволяет непосредственно судить о ее качественном и количественном составе. Массу каждого компонента, выделяемого из смеси хроматографическим методом, определяют обычными химическими, физико-химическими и физическими методами.

Разнообразные варианты хроматографии укладываются в относительно простую схему классификации в зависимости от используемой подвижной фазы и характера межмолекулярных взаимодействий. Поскольку характер взаимодействий может быть очень различным – от чисто ситового эффекта к физической сорбции и далее к хемосорбции (ионный обмен, аффинная хроматография) – то почти не существует объектов, для разделения ко-

торых не удавалось бы найти подходящего сорбента и систем растворителей. Области применения основных вариантов хроматографии в зависимости от молекулярной массы исследуемых соединений показаны на схеме.

Оценивая место хроматографии среди аналитических методов, следует отметить, что в области молекулярного анализа органических соединений хроматография преобладает над другими методами разделения, не заменяя их.

Классификация вариантов хроматографии приведена в таблице 9 и на рисунке 10. В аналитической практике преобладает использование варианта проявительной хроматографии, когда подвижная фаза подается в хроматографическое устройство непрерывно, а разделяемая проба - периодически.

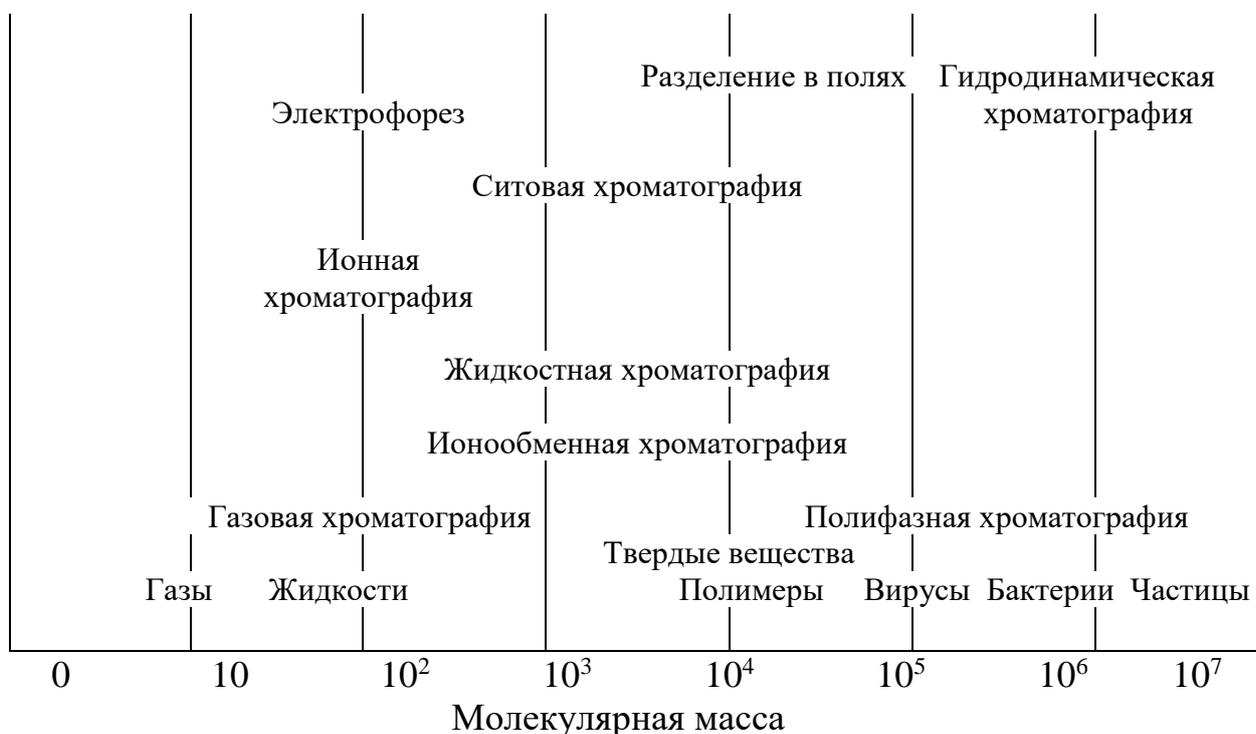


Схема применения основных вариантов хроматографии в зависимости от молекулярной массы исследуемого соединения

В основу классификации методов хроматографии положены различные характерные признаки процесса.

При всем разнообразии вариантов хроматографии практически всегда реализуется общая схема процесса, представленная на рисунке 9.

В зависимости от агрегатного состояния подвижной фазы различают газовую, жидкостную и газожидкостную хроматографию.

Таблицы 9 – Варианты хроматографии по фазовым состояниям

Подвижная фаза	Неподвижная фаза	Название варианта	
		частное	общее
Газ	Адсорбент	Газоадсорбционная	Газовая хроматография
Жидкость	Жидкость	Газожидкостная	Жидкостная хроматография
	Адсорбент	Жидкостно-адсорбционная	
Газ или пар в сверхкритическом состоянии	Жидкость	Жидкостно-жидкая	Флюидная хроматография
	Адсорбент	Флюидно-адсорбционная	
Коллоидная система	Сложная композиция твердых и жидких компонентов	Флюидно-жидкостная	Полифазная хроматография

Газовой хроматографией называют метод, в котором подвижной фазой является газ или пар. Существуют различные варианты газовой хроматографии. В газоадсорбционной неподвижной фазой служит твердый адсорбент. В газожидкостной неподвижная фаза – жидкость, нанесенная на инертный носитель.

Жидкостной хроматографией называют хроматографический метод, в котором подвижной фазой является жидкость. Имеются варианты этого метода: в жидкостно-жидкостной хроматографии – неподвижной фазой является жидкость; в жидкостно-адсорбционной – неподвижной фазой является твердый адсорбент.

По форме проведения хроматографического процесса различают хроматографию колоночную, капиллярную и плоскостную.

В колоночной хроматографии процесс ведут в насадочной или капиллярной хроматографической колонке. В последнем случае метод называется капиллярной хроматографией. Адсор-

бентом или носителем, покрытым слоем нелетучей жидкости, служит внутренняя стенка колонки.

Механизм процесса разделения	Схема	Название варианта
По размеру молекул		Ситовая хроматография
За счет физической адсорбции или растворения		Молекулярная хроматография
За счет ионного обмена		Ионообменная хроматография
За счет водородной связи, химического сродства и др.		Хемосорбционная хроматография

а)

Характер процесса	Схема	Название варианта
В цилиндрическом слое сорбента		Колоночная хроматография
В слое сорбента на плоской поверхности		Планарная хроматография
В пленке жидкости или слое сорбента, размещенном на внутренней стенке трубки		Капиллярная хроматография
В полях электрических, магнитных, центробежных и других сил		Хроматография в полях сил

б)

Рисунок 10 – Варианты хроматографии по характеру взаимодействий (а) и по способу проведения (б).

Плоскостная хроматография осуществляется на плоскости и

включает хроматографию на бумаге и тонкослойную хроматографию.

По механизму процесса разделения смеси выделяют молекулярную (адсорбционную), ионообменную, осадочную и распределительную хроматографию.

Распределительная хроматография основана на различной растворимости разделяемых компонентов в пленке жидкой фазы. В ионообменной хроматографии используется различие констант ионообменного равновесия между двумя фазами.

Адсорбционная хроматография основана на различной адсорбируемости компонентов на данном сорбенте в данных условиях.

Ионообменная хроматография основана на свойстве подвижных ионов сорбента вступать в обменные реакции с ионами анализируемого раствора, который обычно пропускают через хроматографическую колонку, заполненную зернами катионита или анионита. Первоначально ионообменными материалами служили неорганические вещества: пермутит, хроматографирующая окись алюминия, затем стали применять ионообменные смолы. Различные катиониты содержат те или иные функциональные группы: SO_3OH , $-\text{COOH}$ или $-\text{OH}$, прочно связанные со скелетом смолы. А подвижными (обменными) остаются ионы водорода этих групп или заместившие их металлические катионы (солевая форма). Чем больше заряд катиона и меньше его радиус, тем прочнее он удерживается катионитом.

Принцип катионного обмена выражается схемой:



Катионный и анионный обмены подчиняются закону действующих масс, происходят в эквивалентных количествах.

Ионный обмен позволяет концентрировать катионы и анионы из разбавленных растворов, его используют для умягчения или обессоливания природных вод. Ионообменную хроматографию применяют в микроколичественном анализе минеральных удобрений, почв, пестицидов, растительного материала.

Распределительная хроматография основана на различном

распределении веществ между двумя несмешивающимися жидкостями. Образующий колонку пористый носитель удерживает на своей поверхности только одну из жидкостей, которую называют неподвижным растворителем. А вторая жидкость играет роль подвижного растворителя, пропускаемого через колонку с небольшой скоростью. Инертными носителями служат силикагель, кремнезем, оксид алюминия, крахмал; неподвижными растворителями – вода, этиловый спирт, другие полярные жидкости, а неподвижными растворителями – малополярный амиловый или бутиловый спирты, ацетон и другие.

Отношение концентрации вещества в подвижном растворе к концентрации в неподвижном растворе называют коэффициентом распределения:

$$K = \frac{C_{\text{подв.}}}{C_{\text{неподв.}}}$$

Компоненты смеси имеют разные коэффициенты распределения и скорость передвижения их по колонке различна; наибольшей скоростью обладает компонент с наибольшим коэффициентом распределения.

Распространенной плоскостной разновидностью этого метода стала хроматография на бумаге, в которой носителем для неподвижного растворителя служит очищенная фильтровальная бумага.

При хроматографировании на бумаге происходит многократное повторение распределения веществ между двумя фазами (подвижной и неподвижной), образованными целлюлозой бумаги и жидкостью (чаще водой).

К бумаге предъявляются следующие требования: она должна быть химически чистой, однородной по плотности, химически и адсорбционно нейтральной.

Хроматографирование на бумаге производится следующим образом. На полоску бумаги наносят каплю раствора, содержащую смесь веществ, и дают ей высохнуть. Один конец полоски помещают в сосуд с подвижным растворителем. Сосуд плотно закрывают, чтобы не происходило изменение состава растворителя.

Подвижный растворитель под действием капиллярных сил проходит вдоль плоскости бумаги и, пройдя к месту нанесения

пробы, захватывает компонент анализируемой смеси. Происходит распределение молекул отдельных компонентов смеси между подвижной и неподвижными фазами.

Существует несколько видов хроматографии на бумаге: одномерная, двухмерная, круговая и электрофоретическая. Одномерная и двухмерная может быть выполнена в двух вариантах: восходящим и нисходящим потоком растворителя.

Принципы выбора неподвижной фазы и требования, предъявляемые к ней, следующие.

1. Анализируемые вещества должны в данной системе обладать значениями R_f от 0,05 до 0,85. При разделении большого числа веществ следует стремиться к тому, чтобы они были распределены по всей длине хроматограммы. 2. Система должна полностью разделять два (или более) вещества близкого строения, причем различие в величинах R_f должно составлять по крайней мере 0,05. 3. Пятна должны иметь круглую форму и по окончании разделения занимать такую же площадь, как и при нанесении. 4. Система не должна вызывать химических изменений анализируемых веществ. 5. Растворитель не должен взаимодействовать с реактивом, применяемым для проявления.

Если вещество в исследуемой системе остается на стартовой линии, это свидетельствует об его крайне малой растворимости в подвижной фазе, и поэтому нужно пользоваться более гидрофильной системой. Если, наоборот, вещество движется с фронтом растворителя, то оно мало растворимо в неподвижной фазе, и в этом случае выбирают в качестве подвижной фазы растворитель с более гидрофобными свойствами. В некоторых случаях необходимо также испытывать влияние кислотных или основных добавок: кислоты замедляют движение оснований, а основания – кислот.

Коэффициент распределения в системе “вода – неподвижный растворитель” резко сдвинут в сторону подвижного растворителя, т.е. в случае гидрофобных соединений проведение хроматографии на обычной хроматографической бумаге не приводит к желаемому результату. Величина R_f анализируемых компонентов равна или очень близка единице. Поэтому для анализа таких смесей хроматографическую бумагу обрабатывают полярным орга-

ническим растворителем, а в качестве подвижного растворителя используют неполярный растворитель, либо применяют метод обращенных фаз, в котором неподвижная фаза неполярна, а подвижный растворитель – полярен.

Для первого типа систем в качестве неподвижного растворителя используют диметилформаид, диметилфталат, формаид и др. Подвижными растворителями служат гексан, гептан и т.д.

В системах с обращенными фазами неподвижным растворителем являются различные сорта растительных масел, подвижным – водные растворы уксусной кислоты, ацетон, метанол, их смеси и т.п.

Для локализации отдельных компонентов смеси хроматограммы обрабатывают соответствующими реактивами, при взаимодействии которых с компонентами анализируемой смеси образуются окрашенные соединения.

Количественное определение производят путем визуального сравнения интенсивности окраски или флуоресценции пятен пробы и стандартов, либо путем измерения размера пятна, предварительно определив зависимость между количеством вещества и размером его пятна на хроматограмме, либо путем элюирования хроматографических пятен с последующим анализом физико-химическими методами (рисунки 11, 12).

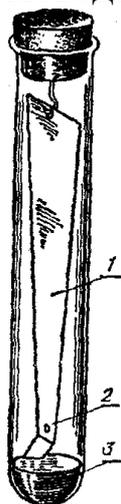


Рисунок 11 – Простейшая камера для хроматографии на бумаге: 1– полоска фильтровальной бумаги; 2– капля исследуемого раствора; 3– растворитель

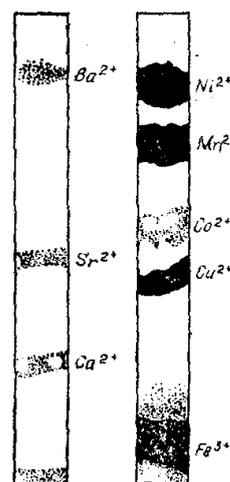


Рисунок 12 – Хроматограммы неорганических ионов на бумаге

Применяя вместо полосок бумаги круглые бумажные фильтры, получают круговые хроматограммы. В этом случае каплю анализируемого раствора наносят микропипеткой в центр круглого фильтра, высушивают его, вырезают и отгибают «фитиль» (длиной 40 и шириной 4 мм), который опускают в подвижный растворитель (рисунок 13); камерами служат эксикаторы или чашки Петри. При этом на фильтре получаются круговые зоны локализации ионов, по ширине которых иногда удается судить о количестве иона. Различают несколько способов количественного определения веществ на бумажных хроматограммах: визуальное сравнение пятен, изменение площади или интенсивности окраски пятна, метод вымывания компонента из бумаги.

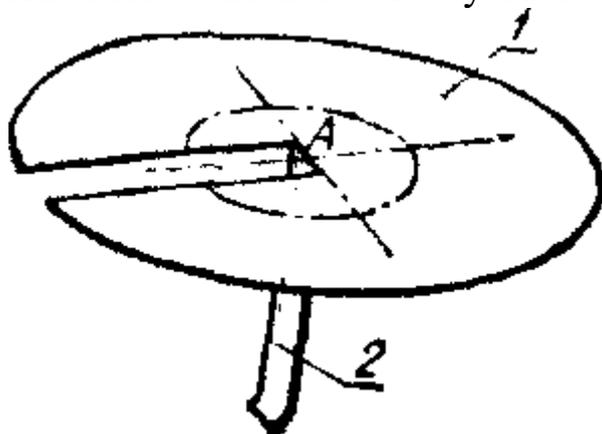


Рисунок 13 – Бумага для круговой хроматограммы:

1 – круглый фильтр; 2 – «фитиль», погружаемый в растворитель; А – место нанесения анализируемого раствора

Хроматография используется для разделения близких по свойствам соединений: аминокислот, пептидов, нуклеиновых кислот, углеводов. Используют ее для определения следов хлорорганических, фосфорорганических и других пестицидов в пищевых продуктах и в биологическом материале.

Тонкослойную хроматографию основали Н.А. Измайлов и М.С. Шрайбер, которые в тонком, не закрепленном на стекле слое оксида алюминия разделяли смеси алкалоидов. Для разделения в тонком слое сорбента используют адсорбционную, ионообменную и распределительную хроматографию.

Преимущества тонкослойной хроматографии перед хромато-

графией на бумаге состоят в следующем: разделение происходит быстрее, слой сорбента устойчив к агрессивным реактивам, чувствительность определений выше (0,1–0,005 мкг).

Обычно на стеклянную пластинку (длиной 15–20 см и шириной 4–20 см) наносят (вручную или специальным прибором) тонкий слой сорбента и на «стартовую линию» этого слоя помещают пробы веществ и их смесей. Затем край пластинки (ниже стартовой линии) погружают в растворитель, который, перемещаясь, разделяет смесь веществ. Отметив границу подъема растворителя («линию фронта»), сушат пластинку, опрыскивают ее *проявителем* и обнаруживают компоненты смеси в виде окрашенных пятен.

При необходимости измеряют расстояние от центра пятна до стартовой линии (отрезок АВ на рисунке 14) и от линии фронта жидкости до стартовой точки (отрезок АС). Отношение этих расстояний (то есть отрезка АС к отрезку АВ) обозначают через константу R_f , характеризующую положение вещества на хроматограмме.

Успешность разделения зависит от правильного выбора сорбента и его активности.

Сорбентами служат оксид алюминия, силикагель, гидроксид кальция, силикат магния, гипс, кизельгур, целлюлоза и иониты.

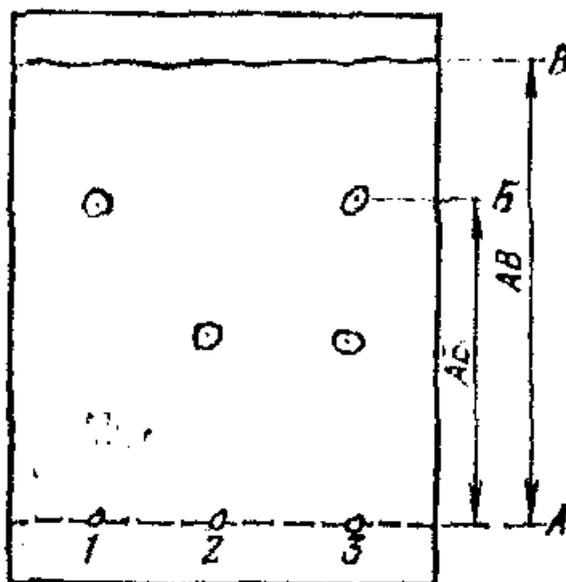


Рисунок 14 – Схема разделения смеси веществ на пластинке с тонким слоем сорбента

Закрепляют слой сорбента на стекле каким-нибудь фиксатором: гипсом, крахмалом, другими материалами. Чаще всего смешивают сорбент, содержащий 5% гипса, с дистиллированной водой в соотношении 1:2, сорбционную массу быстро наносят на пластинку.

Для размывания используют как один растворитель (гексан или хлороформ), так и системы из двух и более.

Тонкослойная хроматография незаменима для обнаружения и полуколичественного определения следов синтетических пестицидов. Хлорорганические пестициды обычно разделяют в тонких слоях оксида алюминия или силикагеля, закрепленных гипсом, а пятна пестицидов обнаруживают, опрыскивая пластинки специальными реактивами.

Адсорбционная хроматография. Этот вид хроматографии основан на избирательном поглощении компонентов смеси адсорбентом.

Под адсорбционной хроматографией понимают методы разделения веществ, использующие молекулярную адсорбцию. Метод был детально разработан М.С. Цветом для разделения органических соединений (неэлектролитов) в неводных растворах; сюда относятся его классические опыты по разделению растительных пигментов на карбонате кальция из петролейного эфира с получением цветных хроматограмм.

К адсорбционной хроматографии относят также разделение смесей парообразных веществ и газов с помощью сорбентов. При этом анализируемый раствор пропускают через трубку, заполненную зернами сорбента, поглощающего молекулы неэлектролитов. Четкость разделения смеси на отдельные компоненты зависит от природы и структуры сорбента, свойств растворителя, состава анализируемых соединений, скорости движения раствора через колонку и его температуры.

Пропуская через колонку с активированным углем смесь паров этилового спирта и толуола, можно получить фракцию почти чистого толуола (с небольшой примесью спирта), фракцию смеси этих веществ и фракцию чистого спирта.

Осадочная хроматография. В отличие от других видов осадочная хроматография, предложенная Е.Н. Гапоном и Т.Б. Гапон, не связана с адсорбционным механизмом, а основана на различ-

ной растворимости осадков, образуемых компонентами анализируемой смеси при контакте с реактивами, нанесенными на носитель.

Поэтому применяемые в осадочной хроматографии колонки состоят из инертного носителя и реактива-осадителя. Получают хроматографическую колонку механическим растиранием носителя с осадителем или пропитывая носитель раствором осадителя (с последующим высушиванием). Этот реактив-осадитель дает с компонентами разделяемой смеси осадки, которые из-за различной растворимости располагаются в определенной последовательности по высоте колонки.

Например, смешивают оксид алюминия (инертный носитель) с иодидом натрия (осадителем) в массовом отношении 9:1, наполняют этой смесью стеклянную трубку и медленно пропускают через нее раствор нитратов ртути (II) и свинца (II). При фильтровании раствора катионы взаимодействуют с иодидом натрия и образуются малорастворимые иодиды; менее растворимый иодид ртути задерживается в верхней части колонки, а более растворимый иодид свинца продвигается в ее нижнюю часть. На осадочной хроматограмме (рисунок 15) наблюдается оранжево-красная зона иодида ртути, а ниже – желтая зона иодида свинца.

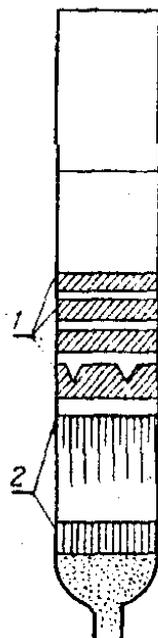


Рисунок 15 – Осадочная хроматограмма ионов Hg^{2+} и Pb^{2+} :

- 1 – зона иодида ртути в виде оранжевых колец;
- 2 – желтая зона иодида свинца

Осадочную хроматографию применяют в аналитической химии для разделения электролитов (ионов), выделения некоторых соединений в чистом виде.

Газовая хроматография – наиболее распространенный и эффективный метод хроматографии. Этот метод обладает высокой чувствительностью и разделительной способностью и позволяет количественно анализировать многокомпонентные смеси. Расшифровка результатов хроматографического анализа достаточно проста, а современный газовый хроматограф представляет собой автоматический прибор, требующий от обслуживающего персонала осуществления лишь небольшого числа операций.

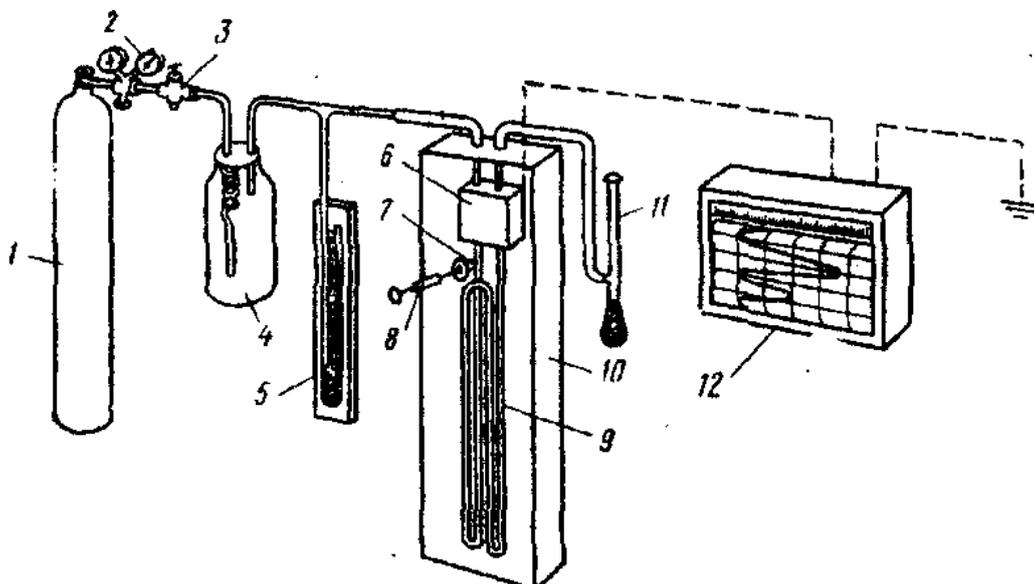


Рисунок 16 – Схема газового хроматографа

На рисунке 16 показана схема простого газового хроматографа. Газ-носитель из баллона 1 через редуктор 2, регулятор давления 3 и стабилизатор потока 4 поступает в сравнительную ячейку детектора 6 и затем через устройство для ввода пробы 7 в хроматографическую колонку 9, расположенную вместе с детектором в термостате 10. Давление на входе колонки измеряется манометром 5, объемная скорость газа-носителя периодически контролируется пенным измерителем скорости 11. Проба шприцом 8 вводится в поток газа-носителя перед хроматографической колонкой через устройство для ввода пробы 7. Поток газа-носителя переносит пробу в хроматографическую колонку 9, где и происходит разделение ее компонентов на отдельные зоны.

Разделенные вещества (хроматографические зоны) поступают в детектор б, который определяет концентрацию (или поток вещества) анализируемых компонентов в газе-носителе. Сигнал детектора, величина которого пропорциональна концентрации (или потоку вещества), автоматически регистрируется потенциометром 12.

При прохождении через колонку смесь веществ разделяется на компоненты, которые поочередно, покидая колонку и проходя через детектор, фиксируются регистрирующим прибором (самописцем) в виде выходных кривых, имеющих форму пиков, расположенных по горизонтальной линии. Совокупность этих пиков называют хроматограммой.

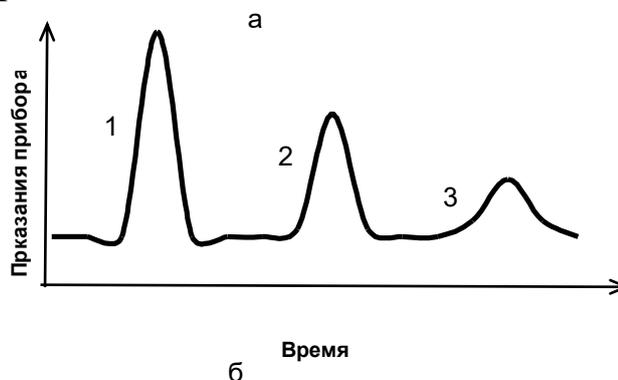


Рисунок 17 – Схема хроматографического разделения трехкомпонентной смеси

Разделение в колонке осуществляется за счет различного распределения молекул разделяемых компонентов между движущейся газовой и неподвижной фазами. Между этими фазами для каждого компонента анализируемой смеси в колонке устанавливается динамическое равновесие. Под действием потока газа-носителя компоненты анализируемой смеси с разными скоростями перемещаются вдоль хроматографической колонки. Скорость этого перемещения определяется для каждого компонента константой его распределения между газовой и неподвижной фазами. Скорость движения хроматографической зоны обратно пропорциональна константе распределения, т.е. хорошо сорбируемые компоненты передвигаются вдоль слоя сорбента медленнее, чем плохо сорбируемые.

Газожидкостная хроматография. В газожидкостной хромато-

графию анализируемую смесь газов (или паров летучих веществ) пропускают через колонку, наполненную пористым инертным носителем (кизельгуром, диатомовым кирпичом и т.д.), пропитанной нелетучей жидкостью (неподвижной фазой). Разделение компонентов смеси основано не на различиях в их сорбируемости, а на *различной растворимости в неподвижной фазе* (вазелиновом масле, триэтиленгликоле, бензилдифениле и т.д.).

Анализируемую пробу вводят дозатором в колонку, где она поглощается на узком участке. Через колонку пропускают непрерывный поток газа-носителя (азота, гелия, водорода), не взаимодействующего с неподвижной фазой и компонентами смеси. При этом компоненты смеси, вследствие различной растворимости и удерживаемости неподвижной фазы, перемещаются на разные расстояния и образуют отдельные зоны. Затем вместе с газом-носителем эти компоненты один за другим выходят из колонки, а выходящий газовый поток поступает в термохимический детектор, регистрирующий физико-химические характеристики компонентов (например, их теплопроводность) и передающий сигналы на записывающее устройство. На ленте прибора вычерчивается сплошная линия – *хроматограмма* (рисунок 18). Пока из колонки выходит чистый газ-носитель, на хроматограмме вычерчивается прямая (нулевая) линия. Наиболее летучему компоненту соответствует пик I, второму компоненту – пик II и т.д.

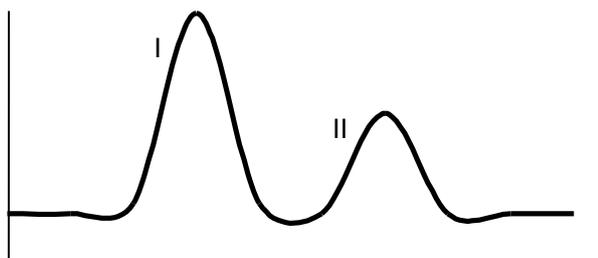


Рисунок 18 – Хроматографическая кривая:
и – отклонение пера самописца; τ – время (объем).

Анализ выполняют с помощью хроматографов (типа «Цвет» или «Хром»). Но предварительно через хроматограф пропускают стандартные смеси газа-носителя с известными количествами определяемого компонента, измеряют высоту полученных пиков

и строят калибровочный график в координатах высота пика – концентрация. Только после этого, соблюдая единообразие условий, пропускают через хроматограф анализируемую смесь, измеряют высоту пика и по калибровочному графику находят содержание определяемого компонента.

Газожидкостная хроматография находит применение в анализе смесей углеводов, аминов, жидких кислот, хлорорганических и других пестицидов. Она отличается высокой чувствительностью и позволяет определить следы компонентов в смесях.

Одной из разновидностей хроматографического метода исследований является гель-хроматография. Название дано по наполнителю хроматографической колонки – хорошо набухающему гелю, который не растворяется в воде, щелочах, разбавленных кислотах и органических растворителях. Чаще всего применяют гель типа сефадекс, изготовленный на базе органического соединения – декстрана. Сефадекс в виде сферических гранул выпускается различных марок в зависимости от размера пор в сетке геля (от G-10 до G-200).

Гель-хроматография основана на молекулярно-ситовом эффекте. Она позволяет разделять однородные фракции (например, гуминовых или фульвокислот) и даже отдельные классы химических соединений с помощью специально подобранных жидкостей – элюентов.

Они пропускаются через слой геля с нанесенным на него раствором испытуемого образца (колонка предварительно насыщается элюентом), а на выходе фракции собираются в специальный коллектор в последовательности от больших молекулярных масс к меньшим.

Если система автоматизирована, то в цикл включается детектор, в котором изменение состава и свойства раствора измеряется и регистрируется в виде кривой автоматически (рисунок 19).

Если процесс не автоматизирован, то анализ фракций производится физико-химическими методами – по оптической плотности, атомно-адсорбционной фотометрией и др.

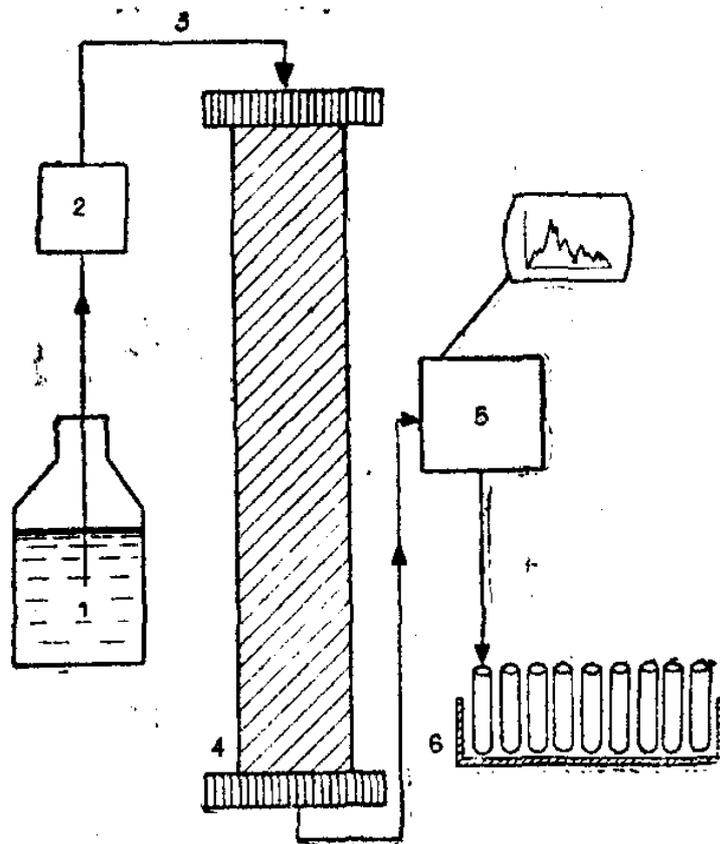


Рисунок 19 – Схема автоматизированного способа проведения гель-хроматографии: 1 – резервуар с элементом; 2 – микронасос; 3 – соединительные шланги; 4 – колонка; 5 – детектор; 6 – фракционный коллектор.

Методом гель-хроматографии можно изучать динамику гумификации и минерализации почв, биологический круговорот веществ и влияние на него различных экологических факторов, а также многие другие процессы.

2.1.7 Радиометрические методы анализа

Радиометрический анализ основан на измерении излучений радиоактивных элементов, он применяется для количественного определения радиоактивных изотопов в исследуемом материале, которые идентифицируются по периоду их полураспада или по виду и энергии испускаемого излучения. В практике количественного анализа чаще всего измеряют активность радиоактивных изотопов по их α - и γ -излучению. Известно несколько методов регистрации этих частиц.

Калориметрические методы основаны на измерении количества теплоты, выделяемой при излучении тех или иных частиц радиоактивным веществом, фотографические – на измерении степени почернения фотографических пластинок (или плёнок) под действием радиоактивного излучения, сцинтилляционные – на регистрации сцинтилляций (световых вспышек), вызываемых ядерными излучениями в веществах, называемых фосфорами (например, сульфиды цинка).

Наиболее распространены ионизационные методы регистрации ядерных частиц, основанные на их свойстве ионизировать вещество, через которое они проходят.

Чаще всего для этого используют специальные счётчики Гейгера. Под действием α -, β - и γ -излучения в газовом счетчике возникает электрический ток, кратковременные импульсы которого усиливаются и выравниваются по величине, а затем поступают на регистрирующее счётное устройство. По числу импульсов в единицу времени определяют содержание радиоактивного элемента в образце (обычно с помощью калибровочной кривой). Для защиты от действия космического излучения и природных радиоактивных излучений как сам счётчик, так и исследуемый объект обязательно помещают в свинцовую камеру.

Радиометрические методы анализа отличаются общей высокой чувствительностью: они позволяют определять изотопы ^{64}Cu и ^{76}As – даже в количествах $3,4 \cdot 10^{-10}$ г. Эти методы используют главным образом для количественного определения микропримесей в металлах высокой чистоты.

Некоторые определения основаны на измерении радиоактивности изотопов, встречающихся в природе. Например, по радиоактивности ^{40}K можно судить о количестве калия в почве и в калийных удобрениях.

Большое значение приобрел сейчас *радиоационный анализ*, принцип которого состоит в следующем. Стабильный изотоп того или иного элемента переводят в радиоактивный, подвергая анализируемый образец облучению в атомном реакторе (или другим способом). Последующее измерение радиоактивности позволяет судить о количественном содержании элемента в исследуемом веществе. Например, атомы углерода ^{12}C при облучении прото-

нами превращаются в радиоактивный изотоп азота ^{13}N , излучающий позитроны и имеющий достаточно большой период полураспада (9,93 мин). Это явление используют для радиометрического определения содержания углерода.

Контрольные вопросы

1. Приведите классификацию методов контроля показателей качества в зависимости от способа и источника получения информации. 2. Перечислите основные характеристики инструментальных методов физико-химического анализа. 3. Какие методы прямых измерений с использованием стандартных веществ чаще всего применяют? 4. Что такое холостой опыт? 5. Что такое градуировка и чем вызвана ее необходимость? 6. Что такое градуировочная функция? 7. Опишите в общих чертах представление о строении атома, которое можно получить из исследований линейчатых спектров элементов. 8. Какой из трех типов радиоактивного излучения обладает наибольшей проникающей способностью? 9. Почему происходит преломление светового луча на границе сред? 10. Какой величиной характеризуют способность среды к преломлению световых лучей? 11. На каком принципе основано измерение преломления световых лучей? 12. Какими методами можно определить с помощью рефрактометра концентрацию растворов? 13. Что такое спектрополяриметрия? 14. Как классифицируются электрохимические методы анализа? 15. На чем основан метод потенциометрии? 16. Какая зависимость выражается уравнением Нернста? 17. Какие функции выполняют индикаторные электроды, а какие – электроды сравнения? 18. Каковы основные типы ионоселективных электродов? Как они устроены? Какие имеют характеристики? 19. Как устроен стеклянный электрод? Как с его помощью определяют pH раствора? 20. В чем отличие прямой потенциометрии от косвенной? 21. В чем сущность полярографического метода анализа? 22. На чем основан количественный и качественный полярографический анализ? 23. Что представляет собой инверсионная вольтамперометрия? В чем ее достоинства? 24. За счет чего происходит хроматографическое разделение веществ? 25. Почему ионы движутся под действием электрического тока? 26. На чем основано раз-

деление ионов методом электрофореза? 27. В чем заключается преимущество использования масс-спектрометра по сравнению с аналитическими весами при определении атомных масс?

2.2 ДИАГНОСТИКА ГУМУСОВОГО СОСТОЯНИЯ ПОЧВ

Гумусное состояние почв представляет собой обобщенную характеристику важнейших свойств и показателей используемых при изучении гумусовых веществ, при экологическом и географическом изучении гумуса. Важнейшие показатели гумусного состояния приведены в таблице 10.

Содержание гумуса. Содержание и запасы гумуса в почвах служат основными критериями оценки почвенного плодородия, а в последние годы рассматриваются и с точки зрения экологической устойчивости почв как компонента биосферы (Добровольский, Никитин, 1986; Фокин, 1986; Тейт, 1990).

Велика энергетическая и экономическая значимость гумуса в настоящее время, так как сокращение затрат механической энергии на обработку почв определяется их гумусным состоянием (Булаткин, 1986; Голубев, 1994). Гумус является аккумулятором и источником энергии для многих биохимических и химических процессов в почве, нормального обмена и круговорота веществ в агроландшафтах (Ковда, 1973).

Профильное распределение гумуса в серых лесных почвах и недонасыщенных черноземах лесостепи Поволжья характеризуется элювиально-иллювиальным типом, причем максимальных размеров процессы иллювиирования достигают в темно-серых лесных и оподзоленных черноземах. В черноземе выщелоченном темпы иллювиирования значительно ниже, а типичные черноземы характеризуются равномерно-аккумулятивным типом внутрипрофильного распределения органического углерода.

Под влиянием распашки и длительного сельскохозяйственного использования почв происходит снижение гумусированности по всему аккумулятивно-гумусовому профилю почв. При этом естественный профиль черноземов меняется в меньшей степени, чем серых лесных почв. Это объясняется тем, что при использовании черноземов остается тот же тип растительной формации (травя-

нистые растения), что и в естественных ландшафтах. В результате чего относительное снижение гумусированности в верхнем слое их составляет 18–30%, в серых лесных 34–45%.

Таблица 10 – Показатели гумусного состояния почв

Признак	Уровень признака	Пределы величины
1	2	3
Содержание гумуса в минеральном профиле почвы	Очень высокое Высокое Среднее Низкое Очень низкое	> 10 6-10 4-6 2-4 < 2
Запасы гумуса в слое 0-20 см (0-100 см)	Очень высокие Высокие Средние Низкие Очень низкие	>200 (>600) 150-200 (400-600) 100-150 (200-400) 50-100 (100-200) < 50 (< 100)
Профильное распределение гумуса	Резко убывающее Постепенно убывающее Равномерное Нарастающее Бимодальное	
Обогащенность гумуса азотом (C:N)	Очень высокая Высокая Средняя Низкая Очень низкая	< 5 5-8 8-11 11-14 > 14
Степень гумификации органического вещества $\frac{C_{гк}}{C_{общ.}} \times 100\%$	Очень высокая Высокая Средняя Слабая Очень слабая	> 40 40-30 30-20 20-10 < 10
Тип гумуса ($C_{гк}/C_{фк}$)	Гуматный Фульватно-гуматный Гуматно-фульватный Фульватный	> 2 2-1 1-0,5 <0,5
Содержание ГК, связанных с Са, % к сумме ГК	Очень высокое Высокое Среднее Низкое Очень низкое	> 80 60-80 40-60 20-40 < 20

1	2	3
Содержание «свободных» ГК, % к сумме ГК	Очень высокое Высокое Среднее Низкое Очень низкое	> 80 60-80 40-60 20-40 < 20
Содержание прочносвязанных ГК, % к сумме ГК	Высокое Среднее Низкое	> 20 10-20 < 10
Оптическая плотность, $E^{0,001\%}_{465\text{ нм}}$ гуминовых кислот	Очень высокая Высокая Средняя Низкая Очень низкая	> 0,15 0,08-0,15 0,06-0,08 0,04-0,06 < 0,04

Наибольшая интенсивность минерализации гумуса наблюдается в светло-серых, уменьшается с переходом к серым и темно-серым лесным почвам. В черноземах уровень потерь гумуса снижается от черноземов оподзоленных к выщелоченным и типичным.

Запасы гумуса. Запасы гумуса служат важнейшей характеристикой почвенного плодородия, отражающей плодородие почв и экологическую устойчивость агроландшафтов. Наряду со снижением содержания гумуса при распашке и длительном сельскохозяйственном использовании происходит сокращение его запасов.

Уменьшение запасов гумуса обусловлено, с одной стороны, снижением поступления свежего органического вещества в пахотные почвы, с другой – усилением минерализации не только его, но и собственно гумусовых соединений в результате ежегодной вспашки.

Вместе с тем следует отметить, что это только одна из причин дегумификации почв. Другой, наиболее масштабной причиной в условиях Приволжской возвышенности, является эрозия. По образному выражению профессора И.А. Крупеникова (1992) «эрозия выполняет по отношению к почве роль гильотины – она ее в буквальном смысле обезглавливает: лишает верхних гумусо-

вых горизонтов».

Большинство площадей пашни в правобережье Среднего Поволжья размещается на склонах крутизной более одного градуса. При таких уклонах формируется сток ливневых и талых вод, а с ними – и механическое отчуждение гумуса.

Обобщающая характеристика гумусного состояния почв (выполненная по Гришиной-Орлову, 1978) черноземов и серых лесных почв изучаемой территории представлена в таблице 11. Анализ данных показывает, что при сельскохозяйственном использовании изменяются не только содержание и запасы гумуса, но и мощность гумусового горизонта. Установлено, что происходит уменьшение мощности последнего в пахотных почвах по сравнению с целинными: в светло-серой на 8 см, серой – на 6 см, темно-серой – на 5, в черноземах – на 4–6 см.

Фракционно-групповой состав гумуса. Уровень плодородия почв определяется не только содержанием гумуса, но и его качественным составом. Он зависит от количества, состава и характера поступления источников гумусообразования, гидротермических условий трансформации, биологической активности, физических и физико-химических свойств почвы. Работами И.В. Тюрина, М.М. Кононовой, В.В. Пономаревой установлено, что качество гумуса в почвах различных природных зон связано в первую очередь с гидротермическими условиями, при этом наибольшая гумификация растительных и животных остатков присуща черноземам.

Почвы лесостепи Поволжья существенно различаются по качественному составу гумуса как на типовом, так и подтиповом уровне. В направлении от светло-серых лесных почв к черноземам типичным и выщелоченным в составе гумуса снижается доля фульвокислот, и растет содержание гуминовых кислот и негидролизующего остатка.

Гумусу светло-серых лесных почв свойственно повышенное содержание несложных продуктов гумусообразования, что сближает их с дерново-подзолистыми почвами, для которых, по определению В.В. Пономаревой (1964), характерно преобладание упрощенных органических и органо-минеральных продуктов гумусообразования.

Таблица 11 – Характеристика гумусного состояния почв лесостепи правобережья Среднего Поволжья

Признак	Светло-серые лесные		Серые лесные		Темно-серые лесные		Черноземы оподзоленные		Черноземы выщелоченные		Черноземы типичные	
	цели-на	паш-ня	цели-на	паш-ня	цели-на	паш-ня	цели-на	паш-ня	цели-на	паш-ня	за-лежь	паш-ня
Мощность гумусового горизонта	35	28	38	32	44	39	109	103	120	114	114	110
Содержание $C_{орг.}$ в слое 0-20 см	2,04	1,13	2,66	1,70	3,56	2,36	5,00	3,80	6,69	5,38	6,14	4,80
Запасы гумуса ($C_{орг.}$, т/га) в слое 0-20 см	44	25	52	42	72	55	91	77	125	116	123	114
Запасы гумуса ($C_{орг.}$, т/га) в слое 0-100 см	83	65	104	89	162	140	258	223	371	345	369	356
Профильное распределение гумуса	резко убывающее		резко убывающее		постепенно убывающее		постепенно убывающее		постепенно убывающее		постепенно убывающее	
Содержание азота, %	0,202	0,117	0,249	0,171	0,326	0,227	0,401	0,329	0,519	0,452	0,490	0,410
Обогащенность гумуса азотом (C:N)	10,09	9,66	10,68	9,94	10,92	10,40	12,47	11,55	12,89	11,90	12,53	11,71
Степень гумификации ($C_{гк}/C_{общ}$)	29,8	28,3	33,7	33,2	34,5	36,0	39,0	39,6	41,3	42,6	43,9	44,5
Тип гумуса ($C_{гк}/C_{фк}$)	0,71	0,64	1,18	1,1	1,38	1,49	1,67	1,72	2,02	2,18	2,32	2,31
Содержание ГК, связанных с Са, % к сумме ГК	30,8	36,7	41,5	48,8	49,0	50,8	63,1	67,2	72,4	73,7	72,9	75,5
Содержание свободных ГК, % к сумме ГК	52,3	43,1	36,2	34,0	31,6	28,9	15,9	15,2	14,5	13,1	8,2	8,8
Содержание прочносвязанных ГК, % к сумме ГК	16,9	22,0	22,3	17,2	19,4	20,3	21,0	17,6	13,1	13,2	18,9	15,7
Содержание негидролизуемого остатка, % к $C_{общ.}$	28,4	28,8	37,8	36,4	40,2	39,9	37,7	37,3	38,2	37,9	37,2	36,2
Оптическая плотность, $E_{465 нм}^{0,001\% ГК}$	0,103	0,118	0,121	0,139	0,142	0,148	0,152	0,171	0,175	0,198	0,228	0,256

В верхнем горизонте (0–20 см) серых лесных почв под лесом сумма гуминовых кислот несколько превышает фульвокислоты и отношение $C_{гк}:C_{фк}$ чуть больше единицы. В гумусовом горизонте темно-серых лесных почв гуминовые кислоты устойчиво преобладают над фульвокислотами (отношение $C_{гк}:C_{фк} = 1,3–1,4$).

Черноземные почвы региона характеризуются значительно большим содержанием гуминовых и меньшим – фульвокислот по сравнению с серыми лесными. Характер распределения основных компонентов органического вещества в них сохраняет ту же закономерность, что и в серых лесных почвах – по мере увеличения глубины снижается содержание гуминовых кислот, и возрастает – фульвокислот. В распределении негидролизуемого остатка прослеживается тенденция к его уменьшению в средней части органо-профиля и возрастанию – в нижней.

Обобщение показателей гумусного состояния почв лесостепи средней части Приволжской возвышенности позволяет заключить, что в зональном ряду почв степень гумификации органического вещества ($C_{гк}/C_{общ.}$) изменяется от средней в светло-серых лесных почвах под лесом до очень высокой в целинных выщелоченных и типичных черноземах. Тип гумуса в светло-серых почвах – гуматно-фульватный, в черноземах выщелоченных и типичных – гуматный, в остальных почвах – фульватно-гуматный. Для почв региона характерно низкое содержание негидролизуемого остатка. Отмечается увеличение количества гуминовых кислот связанных с кальцием от низкого в светло-серых и серых лесных почвах, и до высокого в типичных черноземах. Оптическая плотность растворов гуминовых кислот в изученном ряду растет с 0,103 до 0,256 (от высокой до очень высокой).

Изменение качественного состава органического вещества при трансформации естественных ценозов в агроценозы.

В результате распашки целинных почв лесостепи Приволжской возвышенности и длительного их использования без применения удобрений, как и в почвах других регионов лесостепи, происходит снижение всех групп гумусовых веществ, наблюдаются изменения во фракционно-групповом составе гумуса.

В верхнем полуметровом слое серых лесных почв отмечается снижение менее сложных и более подвижных продуктов гуму-

сообразования, уменьшается относительное содержание негидролизуемого остатка, в светло-серых и серых лесных снижается гуматность. Относительное количество гуматов кальция возрастает прежде всего за счет снижения количества бурых гуминовых кислот. В составе фульвокислот увеличивается содержание фракции, связанной в полимерном комплексе с гуматами кальция и снижается количество подвижных фульвокислот. Но сельскохозяйственное использование этих почв практически не сказывается на распределении групп и фракций гумуса в нижней части почвенного профиля.

В верхней части гумусового горизонта черноземов при длительном использовании происходит относительное увеличение гуминовых кислот и снижение группы фульвокислот и негидролизуемого остатка. Существенные изменения отмечаются во фракционном составе гумуса: уменьшается доля свободных (бурых) гуминовых кислот, растет содержание гуматов кальция и появляется тенденция роста ГК-3.

Выявленные закономерности имеют место при распашке и использовании черноземов ЦЧЗ и лесостепи Украины (Адерихин, Шевченко, 1966; Щербаков, Шевченко, 1984; Бацула и др., 1987; Полупан, Чесняк, 1988; Золотарева, 1989).

Одним из важнейших показателей качественного состава гуминовых кислот являются их оптические свойства в видимой и инфракрасных частях спектра. Распашка и длительное экстенсивное использование почв способствуют росту оптической плотности растворов гуминовых кислот на 4–27% по сравнению с целыми аналогами.

На основании ИК-спектроскопии установлено, что в верхнем слое пахотных черноземов несколько снижается интенсивность поглощения в области $3300\text{--}3500\text{ см}^{-1}$, что, очевидно, связано со снижением количества карбоксильных групп $\text{C}\text{--}\text{OH}$, предположительно связанных с углеводами. При этом происходит снижение отношения приведенной интенсивности светопоглощения при 1020 к 1600 см^{-1} , характеризующим долю участия углеводных компонентов в структуре гумусовых кислот.

Влияние систем земледелия на качественный состав органического вещества. Различные агротехнические приемы оказывают неодинаковое влияние на фракционно-групповой состав

гумуса. Использование минеральных удобрений (особенно в повышенных дозах) вызывает существенное увеличение количества бурых гуминовых кислот. Увеличение первой фракции гумусовых кислот, по-видимому, объясняется не только процессами новообразования за счет органического вещества навоза и биомассы растительных остатков (Мифтанов, Тайчинов, 1963; Когут, 1996), но и изменением физико-химических свойств чернозема, как отмечает Л.К. Шевцова (1989). Обеднение кальцием усиливает незамещенность гумусовых веществ, приводит к снижению их устойчивости. Известно, что именно кальцию принадлежит защитная роль в сохранении и накоплении гумусовых веществ черноземов, предотвращении их вымывания и устойчивости к микробиологическому воздействию.

Наиболее высокие значения оптической плотности в области исследуемых длин волн имеют гуминовые кислоты пахотного (0-25 см) слоя чернозема выщелоченного, используемого в течение 15 лет без применения удобрений (0,528–1,840), что свидетельствует об их «зрелости» – конденсированности ядра молекул (Орлов, Денисова, 1962; Кононова, 1963; Riffaldi, Schnitzer, 1972). Под влиянием удобрений оптическая плотность гуминовых кислот снижается.

Систематическое применение удобрений оказывает влияние и на инфракрасные спектры поглощения гуминовых кислот. При этом установлено, что наименьшая обогащенность углеводными компонентами гумусовых кислот характерна для неудобренного варианта. Использование органических удобрений как самостоятельно, так и особенно в сочетании с минеральными, приводит к росту углеводсодержащих соединений, о чем свидетельствует увеличение отношения интенсивности поглощения при 1020 к 1060 см⁻¹. Следовательно, в структуре гумусовых кислот неудобренного варианта уменьшается доля алифатической, периферической части и возрастает доля ароматической, центральной части, что свидетельствует об уменьшении реакционной способности гумуса.

Известкование среднекислого чернозема сопровождается глубокими изменениями в физико-химических свойствах почвы и приводит к перегруппировке фракций гумуса: доля «свободных» гуминовых кислот снижается в 1,4–2,0 раза, а количество гума-

тов кальция – возрастает в 1,1–1,2 раза. Так как изменения в групповом составе незначительны (0,01–0,15 ед.), можно считать, что данное явление вызвано в основном химическими взаимодействиями, не затрагивающими биохимические аспекты гумусообразования. Применение органо-минеральной системы удобрений на известкованном фоне способствует сбалансированности гумуса по его количеству и качеству и приближает черноземы выщелоченные к их целинным аналогам.

Лабильное органическое вещество. Групповой и фракционный состав гумуса позволяет характеризовать генетические и фациальные особенности тех или иных почв, но попытки оценить вклад отдельных компонентов его в формирование урожая не дают, как правило, положительных результатов (Ганжара, Орлов, 1993). Наиболее целесообразным подходом к выявлению агрономической ценности гумуса и его составляющих является разделение всех органических соединений почвы на две большие части: группу консервативных, устойчивых веществ (гуминовые кислоты, гуматы, другие органо-минеральные соединения, гиматомелановые кислоты, гумин) и группу лабильных соединений (Орлов, 1980; Тейт Р., 1991; Korshens M. 1980; Parton et al., 1983; Dalal, Mayer, 1987; Schulz E., 1997).

Для определения агрономической ценности гумуса зональных почв Поволжья, в зависимости от использования почв, элементов систем земледелия, предлагается изучение следующих форм лабильных веществ: лабильные гумусовые кислоты, извлекаемые 0,1 н раствором NaOH (ЛГК); подвижное органическое вещество, извлекаемое 0,2 н раствором NaOH по методике Егорова (ПОВ); лабильные органические вещества (ЛОВ), извлекаемые раствором KCl с $d = 1,8 \text{ г/см}^3$ (по Н.Ф. Ганжаре и др., 1987); углеводы; водорастворимый гумус почвенного раствора, образующийся на стадии между минерализацией органических остатков и началом их гумификации и влияющий как на рост и формирование корневых систем, так и на поступление воды и питательных элементов в растения (ВОВ).

Исследованиями в естественных фитоценозах и агроценозах лесостепи Среднего Поволжья установлено, что качественный состав органического вещества почв лесостепи Среднего Поволжья в зонально-генетическом ряду существенно изменяет-

ся: от светло-серых лесных почв к черноземам типичным. В верхней части органопрофиля происходит увеличение глубины гумификации, рост гуматности, снижение содержания свободных гуминовых кислот и рост связанных с Са, снижение фульвокислот фракций 1-а и 1. В процессе распашки и длительного сельскохозяйственного использования групповой и фракционный состав органического вещества почвы претерпевает определенные изменения: в серых лесных и недонасыщенных черноземах намечается тенденция повышения глубины гумификации, снижения негидролизующего остатка, уменьшения содержания свободных и роста связанных с Са гуминовых кислот, снижение количества ФК-1а и рост ФК-2. Наиболее значительное уменьшение содержания органического вещества в процессе сельскохозяйственного использования происходит в составе ЛОВ.

В полевых агроценозах выявлено, что в севооборотах с клевером повышается как абсолютное, так и относительное содержание подвижного органического вещества, а также возрастает содержание фракций ГК-1, ГК-2 и снижается – ФК-1. Введение многолетних трав в выводные поля севооборотов обеспечивает рост отношения $C_{ГК}/C_{ФК}$ в черноземах и серых лесных почвах, и повышение содержания лабильных форм органического вещества. Применение безотвальной основной обработки чернозема выщелоченного вызывает дифференциацию пахотного слоя по содержанию ЛОВ. Влияние органических удобрений на фракционный состав проявляется в росте степени гумификации органического вещества, увеличении гуматов кальция и снижении бурых гуминовых кислот; действие минеральных удобрений прямо противоположно. Под действием органических удобрений в светло-серой лесной почве повышается содержание лабильных гумусовых кислот, детрита и водорастворимого гумуса, в черноземе выщелоченном – детрита и подвижного органического вещества.

Диагностика подвижных форм гумусовых веществ в пахотных почвах. При оценке режима органического вещества в пахотных почвах важное значение имеет диагностирование лабильных форм гумусовых соединений. При этом следует иметь в виду: содержанию гумуса присуща высокая динамичность, что отмечалось многими исследователями (Бреус Н.М., Михновская А.Д., 1976; Дергачева М.И., 1984; Korschens M., 1982). Однако,

несмотря на заметную сезонную изменчивость содержания гумуса, характер распределения его по профилю разных типов почв оказывается вполне определенным, поэтому для оценки гумусового состояния и в качестве диагностического признака почв наиболее часто применяется изменение общего содержания гумуса с глубиной (Александрова Л.Н., 1980; Орлов Д.С., Бирюкова О.Н., Суханова Н.И. 1996).

Исследования в полевом опыте по изучению систематического применения удобрений на гумусное состояние почв (в последнем поле третьей ротации севооборота) выявлено, что содержание гумуса, извлекаемого методом Тюринга из верхнего 0–5 см слоя подвержено значительным колебаниям в течение периода вегетации озимой ржи (таблица 12). На контрольном варианте выявлена тенденция снижения $C_{орг.}$ от момента возобновления вегетации (3,87) до уборки урожая (3,63). Аналогичные изменения (4,35–4,21%) характерны и для варианта с использованием органо-минеральной системы удобрений ($P = 0,99$). Эти изменения в расчете на относительные проценты от общего гумуса составляют 6,1 и 4,3% соответственно для варианта без удобрений и с использованием 10 т/га навоза + $N_{83}P_{78}K_{84}$).

Таблица 12 – Сезонная динамика содержания $C_{орг.}$ в слое 0–5 см чернозема выщелоченного (данные с опытного поля Пензенской ГСХА, 1995)

Вариант	Показатель	Срок отбора				
		15.04	30.05	5.07	3.09	20.10
без удобрений	M	3,87	3,78	3,63	3,68	3,72
	n	10	10	10	10	10
	Sx	0,55	0,55	0,62	0,56	0,37
	m	0,17	0,17	0,20	0,18	0,12
	V	8,24	8,45	9,90	8,82	5,76
навоз 10 т/га + $N_{83}P_{78}K_{84}$	M	4,35	4,30	4,21	4,16	4,20
	n	10	10	10	10	10
	Sx	0,95	0,78	0,80	0,84	0,95
	m	0,30	0,25	0,25	0,27	0,30
	V	12,67	10,53	11,02	11,70	13,12

Примечание: M – среднее арифметическое, n – количество наблюдений, Sx – среднее квадратическое отклонение, m – ошибка средней арифметической, V – коэффициент вариации

Результаты определения динамики гумуса в слоях 10–20 и 20–30 см показывают что сезонные различия недостоверны. Если считать, что изменения в содержании гумуса происходят в основном в слое 0–10 см (Ганжара Н.Ф., 1983; Самойлова Е.М., Сизов А.П., Яковченко В.П., 1990) и пересчитать изменения гумусированности на весь пахотный слой (0–25 см), то максимальный размах в изменении содержания гумуса составляет на контрольном варианте 0,09%, а на удобренном - 0,06% $C_{орг}$.

Наряду с теоретическим изучение сезонной динамики гумуса имеет и важное практическое значение, так как она в определенной степени осложняет исследования по влиянию применения удобрений на содержание в почвах гумуса в длительных стационарных опытах. Вероятно, что отбор почвенных проб в разные годы не гарантирует того, что величина порядка 0,06–0,09% $C_{орг}$ не является результатом сезонной динамики гумуса. Следовательно, обработку результатов длительных опытов следует проводить между изучаемыми вариантами с использованием почвы, отобранной в один и тот же период времени, чтобы в большей мере исключить влияние срока отбора образцов.

Определенная сезонная изменчивость наблюдается в пространственной изменчивости ЛГК, ЛОВ и ВОВ. При этом коэффициенты вариации их имеют наибольшие значения весной (в период возобновления вегетации озимых и перед севом яровых зерновых), несколько уменьшаются к периоду уборки урожая и вновь возрастают осенью. Следовательно, при изучении сезонной динамики подвижных форм органического вещества расчет количества пространственных повторностей необходимо проводить с учетом изменения коэффициента вариации, уменьшающегося к периоду уборки урожая (когда подвижные группы органического вещества достигают наиболее стабильного состояния).

В связи с различиями в сезонной динамике подвижных форм органического вещества встает необходимость в изыскании параметров гумусового состояния наиболее адекватно отражающих особенности различных типов почв и влияния агротехнических приемов возделывания культурных растений. С этой целью нами была проведена метрологическая работа по определению наиболее информативных форм органического вещества пахотных почв лесостепи Среднего Поволжья.

Наименьшая вариабельность в содержании характерна для подвижных форм органического вещества, извлекаемых по методу Тюрина как в щелочной, так и водной вытяжке. При этом необходимо учитывать, что использование щелочи для выделения гумусовых веществ из светло-серой лесной почвы приводит к значительному увеличению отклонений между результатами параллельных определений и повышению коэффициента вариации. В черноземе выщелоченном, наоборот, меньшие значения вариабельности характерны для щелочной вытяжки по Тюрину И.В. Использование в качестве экстрагента 0,2 н щелочи, при уменьшении времени ее взаимодействия с почвой и увеличении отношения “почва: раствор” до 1:5 приводит к снижению точности определения, что характерно как для светло-серой лесной почвы, так и чернозема выщелоченного.

Оценивая количество углерод- и азотсодержащих соединений, извлекаемых из почвы различными методами, в первую очередь необходимо отметить, что различия в выборе экстрагента и методе выделения играют существенную роль в количестве выделяемых веществ. Из состава светло-серой лесной почвы щелочными вытяжками выделяется до 30–40% от общего содержания углерода и азота в почве, что вряд ли можно считать достаточно объективным показателем оценки доступности элементов питания из этой части органического вещества. Для этих целей более приемлемым является использование методы Тюрина с использованием в качестве экстрагента воды, а также физического метода, основанного на выделении тяжелой жидкостью (по Ганжаре Н.Ф.).

Для чернозема выщелоченного более предпочтительным (по вариабельности и относительному выделению углерода и азота из суммарного их количества) являются методы Тюрина И.В. с использованием 0,1 н NaOH и Ганжары Н.Ф. Применение для этих целей воды не вполне обоснованно, так как относительное содержание выделяемых фракций значительно снижается, а точность определения остается невысокой.

Таким образом, учитывая динамику подвижных форм органического вещества, их пространственную и внутрисезонную изменчивость в качестве диагностических для почв лесостепи Среднего Поволжья могут служить: на светло-серых лесных поч-

вах ЛОВ и ВОВ, на черноземных почвах – ЛОВ и ЛГК по Тюри-ну.

Контрольные вопросы

1. Назовите основные источники органического вещества почвы. 2. Что такое гумус? Дайте характеристику его состава и свойств. 3. Каковы главные показатели гумусного состояния почв? 4. Раскройте роль органического вещества, его гумусовой и негумусовой частей в формировании плодородия. 5. Назовите главные составляющие баланса гумуса в почвах и укажите особенности его формирования в пахотных и целинных почвах. 6. Как регулируют гумусное состояние почв? 7. Назовите методы определения гумуса в почвах.

2.3 БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Характерной чертой современной науки является создание новых методов на стыках различных смежных областей науки. Примером служит развитие биологических методов анализа, базирующихся на достижениях таких областей биологии, как микробиология, зоология, ботаника, а также аналитической химии.

Биологические методы основаны на том, что для жизнедеятельности - роста, размножения и функционирования живых существ необходима среда строго определенного химического состава. При изменении этого состава, например, при исключении из питательной среды какого-либо компонента или введении дополнительного (определяемого) соединения, организм через какое-то время, иногда практически сразу подает соответствующий ответный сигнал. Установление связи характера или интенсивности ответного сигнала организма (называемого индикаторным) с количеством введенного в среду или исключенного из среды компонента служит для его обнаружения или определения. Аналитическими индикаторами в биологических методах являются различные живые организмы, их органы и ткани, физиологические функции, биохимические реакции и т.д. Для биологических методов характерны своя методика эксперимента, аппаратура и

способ регистрации ответного сигнала индикаторного организма.

Все вещества по отношению к живым организмам можно условно разделить на: 1) жизненно необходимые, 2) токсичные, 3) физиологически неактивные. Очевидно, только в двух первых случаях можно ожидать сравнительно быструю ответную реакцию организма (аналитический сигнал). Физиологически неактивные вещества могут дать отдаленный результат, или их можно перевести в активное состояние в результате реакций взаимодействия с ингибиторами либо стимуляторами процессов жизнедеятельности организмов.

От характера определяемого вещества зависит выбор того или иного индикаторного организма. Его ответный сигнал на изменение химического состава твердой, жидкой или воздушной сред может быть самым разнообразным: изменение характера поведения (поведенческие реакции); стимуляция или подавление роста, накопления биомассы; изменение пигментации, состава крови, биоэлектрической активности органов и тканей; нарушение функций органов пищеварения, дыхания, размножения; патолого-анатомические изменения организма. Обобщенным показателем эффективности действия определяемого соединения на индикаторный организм является либо выживаемость, либо летальный исход. Все перечисленные или какие-либо другие изменения индикаторного организма в отдельности или в совокупности могут быть использованы в качестве аналитического сигнала, который можно измерить физико-химическим методом или оценить визуально.

Выбор способа регистрации ответного сигнала на заключительной стадии выполнения анализа зависит как от целей анализа, так и от механизма и степени взаимодействия определяемого вещества и индикаторного организма. Чем сложнее организм, тем большее число его жизненных функций можно использовать в качестве аналитических индикаторов, тем выше информативность биологических методов анализа. Ответный сигнал индикаторного организма на одно и то же вещество зависит от концентрации последнего: малые концентрации обычно стимулируют процессы жизнедеятельности организма, высокие угнетают. Существенное повышение концентрации биологически активного вещества приводит к летальному исходу.

Диапазон определяемых содержаний, предел обнаружения соединений зависят от физико-химических и биологических факторов: направленности и продолжительности воздействия химического соединения на организм; температуры, рН среды; уровня организации индикаторного организма, его индивидуальных, возрастных, половых особенностей.

В роли индикаторного организма могут выступать микроорганизмы, беспозвоночные, позвоночные. Применение этих индикаторных организмов в анализе мы и рассмотрим в статье. При этом следует отметить, что в последние годы все большее внимание ученых привлекают растительные индикаторы. Так, например, по скорости роста, увеличению массы, разветвленности корней растений можно оценить содержание в почве тяжелых металлов (свинца, кадмия).

2.3.1 Методы биоиндикации и биотестирования

Важнейшими методами являются биологическая индикация и биологическое тестирование, то есть оценка природной среды или ее показателей, основанная на учете живых организмов (так называемых тест-объектов), особенно чувствительных к химическим примесям (или другим свойствам).

Живые индикаторы имеют существенные преимущества, так как не требуют применения дорогостоящих и трудоемких физико-химических методов и вместе с тем суммируют все без исключения биологически важные данные о загрязнениях: скорость происходящих изменений, пути и места скоплений в экосистемах различного рода токсикантов, позволяют судить о степени вредности тех или иных веществ для живой природы и человека. Специально по этим методам разработана международная программа «Биоиндикаторы», периодически проводятся международные симпозиумы по биоиндикации антропогенных загрязнений (Индия, 1984; Канада, 1985; Россия, 1989 и т.д.).

Существуют два типа биологических индикаторов – растения и животные. Растения-биоиндикаторы находят применение прежде всего при контроле загрязнения воздуха; животные-биоиндикаторы используются для наблюдения за качеством вод.

Так, изучая состав лишайников, растущих на коре деревьев, ученые определяют степень задымления городов. Некоторые лишайники исчезают совсем уже при слабом загрязнении атмосферы. Другие выдерживают относительно высокие концентрации загрязнителей. Малейшее загрязнение воздуха сернистым газом, не влияющее на большинство высших растений, вызывает массовую гибель лишайников.

Лишайники (а также мхи) способны накапливать радионуклиды, благодаря их высокой сорбирующей способности.

Появление радиоактивной пыли при катастрофе на Чернобыльской АЭС было установлено в Швеции именно по анализу лишайников. Исследование мхов Армении показало, что содержание стронция-90 во мхах было в 10-26 раз выше, чем в полынях. Сфагновые мхи используют и в качестве индикатора загрязнения атмосферы тяжелыми металлами.

Существуют специальные живые приборы – бриометры (от латинского названия *brium* – мох) – маленькие коробочки с мхами определенных видов, которые выставляют в разных местах города. За сутки мхи хорошо «запоминают» режим задымления атмосферы.

Кроме мхов, для этих целей применяют и некоторые особо чувствительные растения, например, кресс-салат.

Для тестирования используют обычно растения из незагрязненных областей или выращенные под контролем на испытательном участке. Внешними признаками (критериями повреждений) служат видимые изменения – некрозы тканей, хлороз листьев, изменения роста, черные пятна на листьях, ширина годичных колец деревьев и др.

Некоторые фитоиндикаторы и загрязнения атмосферы, которые можно тестировать с их помощью, представлены в таблице 13.

Биотестирование вод позволяет получить интегральную оценку их загрязнений промышленными отходами, пестицидами и другими ксенобиотиками, в том числе и в тех случаях, когда возникает аварийная ситуация и необходим срочный экспресс-анализ.

В качестве биоиндикаторов используются водообитающие микроорганизмы, а также водоросли, беспозвоночные (инфузо-

рии, коловратки, ракообразные, моллюски). Так, наличие в водоемах водокраса лягушачьего, наяды, сальнии или водяного ореха – показатель высокого качества воды, а массовое развитие роголистника, ряски – признак сильного загрязнения водоема.

Таблица 13 – Растения – биоиндикаторы загрязнений атмосферы

Индикатор	Показатели загрязнений
Лишайники, мхи	Общие загрязнения
Слива, фасоль обыкновенная	Тяжелые металлы
Ель, люцерна	Диоксид серы (SO ₂)
Косточковые плоды, гладиолус	Фтористый водород (HF)
Береза бородавчатая, земляника лесная	Хлористый водород (HCl)
Подсолнечник, конский каштан	Аммиак (NH ₃)
Шпинат, горох	Сероводород (H ₂ S)
Крапива, табак	Фотосмог
Соя, недотрога обыкновенная	Полициклические ароматические углеводороды (ПАУ)

Надежным тест-объектом могут служить и некоторые виды рыб: на крупных внеплощадочных очистных сооружениях во вторичных отстойниках (перед сбросом очищенных вод) часто содержатся рыбки гуппи, а в зоне чистой воды обитают форель, окунь, лосось, минога.

Исследуемыми показателями при биоиндикации могут служить люминесценция светящихся бактерий и водорослей; электрическая реакция клеток водорослей; двигательная активность инфузорий, их выживаемость; нарушение фототаксиса (движение на свет) моллюсков; дыхательная и сердечная активность рыб и многое другое.

О качестве воды судят не только по составу обитающих в водоемах растений и животных организмов, но и по их поведению, численности микрозоопланктона и другим признакам.

В поле зрения объектива микроскопа видно, что при нормальных условиях некоторые микроорганизмы спокойно плавают или быстро передвигаются, а при отравлении воды вообще замирают.

Определение загрязненности вод ионами тяжелых металлов производят по двигательной активности пиявок: обычно при помещении пиявок в опытные сосуды у них наступает спад активности, однако при внесении в воду загрязнений это состояние меняется на динамичное – с интенсивным движением. Оловоорганические соединения в воде подавляют интенсивность роста водорослей, способность их клеток светиться ярко-красным светом при облучении ультрафиолетовыми или сине-фиолетовыми лучами, изменяя окраску (люминесцентная микроскопия).

Используя специальные цветные шкалы, можно определить фактическое наличие или отсутствие токсичных веществ в исследуемой воде, а также иногда их концентрацию.

Как правило, биотестирование не позволяет определить полный качественный спектр загрязняющих веществ в воде, но дает возможность быстро установить факт загрязненности. Однако можно подобрать такие тест-объекты, которые дадут информацию и о составе загрязнений. По общей численности инфузорий и коловраток делают картограммы и графики, на которых на оси абсцисс отмечают станции слежения в порядке удаления их от точки выброса стоков. На основе карт и графика акваторию в районе влияния стоков делят на четыре зоны, различающиеся по уровню загрязненности воды и по экологическому состоянию микрозоопланктона (первая зона – фоновая вне действия сточных вод).

Благодаря простоте и скорости выполнения анализа по этому методу, можно получить основные сведения об экологическом состоянии загрязняемого водоема, не прибегая к глубоким биологическим исследованиям, которые дают более детальные результаты, но требуют большого количества материала, затрат времени и привлечения высококвалифицированных специалистов. Метод может дать информацию, достаточную для предварительных прогнозов и рекомендаций при отсутствии биологических данных об этом водоеме до начала его антропогенного загрязнения. Характеристики кривой графика (амплитуда колебаний, размах кривой, размеры и соотношение разных ее участков и т.д.) пригодны для контроля за выпуском сточных вод по сезонам и годам, а также для прогноза дальнейшего загрязнения водоема и состояния его биоценозов.

Широко используется при экологических исследованиях биоиндикация почв с помощью произрастающих на них растений (фитоиндикация). Для оценки плодородия почв пригоден достаточно большой набор растений (таблица 14).

Методом фитоиндикации можно выяснить обеспеченность почвы определенными химическими элементами.

Высокое содержание азота показывают растения вырубков в лесу (растения-нитрофилы) – иван-чай, малина, крапива; на лугах и пашне – разрастание пырея, гусиной лапчатки, спорыша. При хорошем обеспечении азотом растения имеют интенсивно-зеленую окраску.

Таблица 14– Фитоиндикация уровней плодородия почв

Оценка плодородия	Преобладающие растения	
	в лесах	на лугах
Очень высокое	малина, крапива, сныть, чистотел, копытень, валериана	чина луговая, костер безостый, таволга, осока
Умеренное (среднее)	мятлик, медуница, дудник, гравилет речной	овсяница луговая, лисохвост луговой, луговик душистый, купальница
Низкое	сфагновые мхи, лишайники, черника, брусника, клюква	ситник нитевидный, колосок душистый, белоус

Недостаток азота индицируется бледно-зеленой окраской растений, уменьшением ветвистости и числа листьев, на лугах – преобладанием бобовых при меньшем количестве злаков.

Недостаток фосфора проявляется в слабом росте бобовых на лугах.

Высокую обеспеченность кальцием индицируют некоторые бобовые (например, люцерна серповидная), листовница сибирская.

При недостатке кальция господствуют так называемые кальциефобы – растения кислых почв: белоус, щучка (луговик дернистый), щавелек, сфагнум и др. Эти растения устойчивы также к вредному действию ионов железа, марганца и алюминия.

Фитоиндикаторы могут быть использованы в качестве показателя повышенной кислотности почв (хвоци, щавель малый, ко-

лос душистый); их избыточной влажности (заболоченности) – мята полевая, сабельник болотный; степени загрязненности навозными стоками, обогащенными нитратами и аммонийными и натриевыми солями.

Направление движения этих стоков вниз по рельефу можно хорошо проследить по растениям: вдоль всего пути разрастаются мощные, «жирующие» растения, переносящие избыток азота и натрия и достаточно влаголюбивые. Особенно характерными для почв под животноводческими стоками являются марь белая, ромашка непахучая, лопух паутинистый, горец почечуйный, крапива, одуванчик, череда и ряд других. По мере «истощения» стока уменьшаются размеры растений, меняется их состав. Таким образом, при движении вдоль стока можно определить продолжительность его влияния на почву.

По составу растений сорняков можно оценить и интенсивность применения гербицидов. Например, преобладание среди сорных растений звездчатки средней и овсюга – свидетельство частого применения гербицидов, которых совсем не боятся эти виды. Появление василька синего говорит об обратном, так как он погибает от всех гербицидов (поэтому при химизации он исчезает в первую очередь).

Для целей диагностики почв можно использовать и материалы по изучению почвенной фауны, встречаемости тех или иных насекомых, распространенности животных и т.д.

В «Лекциях по почвоведению» В. В. Докучаев приводит слова специалиста-энтомолога: «Привезите мне разных мух с Кавказа, и я вам скажу, какие там почвы». И это совершенно справедливое утверждение – ведь мухи черноземной, таежной и других зон отличаются друг от друга, и это связано в значительной мере с характером почвы. То же самое можно сказать и о взаимосвязи почв со всем животным и растительным миром.

2.3.2 Микроорганизмы как аналитические индикаторы

Наиболее часто в качестве индикаторных организмов используют микроорганизмы: бактерии (рода *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Escherichia*, стафилококки), актиномицеты, плесневые грибы, дрожжи, водоросли. Микроорганизмы широко распространены в

природе – они присутствуют в почве, водоемах, илах, воздухе; обладают высокой чувствительностью к действию биологически активных веществ; просты в культивировании и хранении; длительное время сохраняют свои свойства в виде лиофилизированных препаратов.

Методы определения веществ с использованием микроорганизмов предполагают культивирование чистых индикаторных культур на плотных или жидких питательных средах при постоянных условиях (температуре, рН, воздухообмене, влажности), а также учет фаз их роста, зависящих от физиологического состояния клетки.

Изменение химического состава питательной среды приводит к подавлению или стимуляции роста как отдельной клетки микроорганизма, так и популяции в целом, и сопоставление наблюдаемого отклика организма с контрольным опытом, проводимым в постоянной по составу питательной среде, является основой биологического метода анализа.

На плотных питательных средах регистрируют изменения внешнего вида колоний, их размеров и формы, характерной для каждого вида микроорганизмов. Методы определения биологически активных веществ при этом основаны на диффузии их в агаризованную среду с образованием зон угнетения или стимуляции роста. Диаметр этих зон является линейной функцией концентрации определяемых веществ в некотором ее интервале. При постоянном составе среды, оптимальных для данного организма рН и температуре величина зон зависит от толщины питательного слоя: чем толще слой, тем меньше зона. Для анализа микробиологических систем возможно использование явления дифракции света на микроорганизмах.

Характер роста культуры в жидких питательных средах, содержащих все необходимые компоненты, более однообразен, чем на поверхности твердых питательных сред. В зависимости от количества определяемого компонента, введенного в прозрачную питательную среду, изменяется помутнение культурального раствора по сравнению с контрольным раствором: при подавлении роста культуры интенсивность помутнения нарастает медленно, при стимулирующем действии определяемого вещества либо иона анализируемый раствор мутнеет значительно быстрее кон-

трольного. По данным нефелометрических (фотометрических) измерений строят градуировочный график зависимости интенсивности изменения оптической плотности исследуемого раствора от концентрации определяемого вещества, с помощью которого и получают результаты анализа. Продолжительность анализа с использованием быстро растущих культур составляет не менее 3,5–4 ч. В зависимости от характера среды интенсивность роста (размножения, угнетения) популяций оценивают оптическими, диффузионными или электрохимическими методами.

При выборе индикаторной культуры для решения конкретной аналитической задачи следует принимать во внимание пищевые потребности организмов. Так, например, автотрофные микроорганизмы питаются в основном неорганическими солями и не нуждаются в органических соединениях. Для питания гетеротрофных бактерий, дрожжевых культур, плесневых грибов необходимы органические вещества.

К широко используемым в неорганическом анализе микроорганизмам относятся плесневые грибы рода *Aspergillus*. Наибольшим токсическим действием на эти культуры обладают нитраты ртути (II), кадмия, таллия, что объясняется блокированием ими SH-групп молекул белка микроорганизмов. Из анионов наиболее токсичными для исследованных грибов являются и в концентрациях 1,0 и 0,1 мМ соответственно.

Грибы как аналитические индикаторы широко используют при анализе почв на содержание (на уровне 1 пг/мл – 10 нг/мл) биогенных элементов минерального питания высших растений, например цинка, меди, марганца, железа, молибдена. Возможно также определять в почвах усвояемые формы калия, фосфора, углерода, азота, серы. При этом учитывают то, что эффективности физиологического воздействия различных элементов на растения и микроорганизмы принципиально не различаются. Микробиологические методы анализа в данном случае часто оказываются более информативными, чем химические, так как позволяют определять не валовое содержание элементов, а их физиологически активные формы, влияющие на жизнедеятельность растений. Это позволяет наиболее полно характеризовать плодородие почв.

Ростовые реакции микроорганизмов, изменяющиеся под действием различных химических соединений, применяют в ана-

лизе природных и сточных вод. С использованием бактерий и дрожжей разработан диффузионный метод обнаружения в сточных водах фенолов, нефтепродуктов, фосфор- и элементоорганических соединений.

Чрезвычайно высокой чувствительностью определения некоторых биологически активных соединений отличается биолюминесцентный метод, основанный на реакции окисления кислородом воздуха субстрата люциферина, катализируемой ферментами люциферазами, выделенными из различных видов морских светящихся бактерий *Photobacterium*, *Veneckea* или жуков-светлячков. Наряду с люциферинном и люциферазой для протекания указанной реакции необходима аденозинтрифосфорная кислота (АТФ), которая участвует в многочисленных метаболических реакциях в организме, являясь аккумулятором энергии и ее источником для самых разных процессов, протекающих в живой клетке. Содержание АТФ в тканях, растительных и живых клетках свидетельствует об энергетическом состоянии клеток. При угнетающем или стимулирующем действии каких-либо веществ на рост микроорганизмов содержание АТФ в них соответственно понижается или повышается. Специфичность действия люциферазы светлячков по отношению к АТФ, высокий квантовый выход реакции позволили создать на этой основе высокочувствительные (с пределами обнаружения 10^{-17} – 10^{-15} М) и селективные методы определения АТФ, а также различных метаболитов, в процессе превращения которых образуется АТФ. Биолюминесцентный метод определения содержания АТФ в живых (растущих или гибнущих) клетках используют для экспресс-определения антибиотиков в крови, микробных бактерий в моче, для изучения повреждения клеточных мембран и других биохимических анализах и исследованиях.

Микроорганизмы широко применяют при изучении антибиотической активности веществ, их биологической роли, контроле технологических процессов промышленного производства антибиотиков, витаминов и аминокислот. Следует отметить еще один важный аспект применения микроорганизмов в химическом анализе – концентрирование и выделение микроэлементов из разбавленных растворов. Потребляя и усваивая микроэлементы в процессе жизнедеятельности, микроорганизмы могут селективно

накапливать некоторые из них в своих клетках, очищая при этом питательные растворы от примесей. Например, плесневые грибы применяют для избирательного осаждения золота из хлоридных растворов, очистки растворов от ионов меди, цинка, железа.

2.3.3 Использование беспозвоночных в качестве индикаторных организмов

Ответным сигналом простейших на изменение химического состава среды является раздражение, приводящее к каким-либо изменениям других биохимических и физиологических функций организма.

Наиболее изученными с точки зрения использования в аналитических целях являются инфузории *Paramecium caudatum*. С их помощью возможно определение ионов тяжелых металлов, однако они непригодны для обнаружения и определения анионов. Скорость движения инфузорий повышается при введении в среду их обитания микроколичеств этанола, сахарозы, фурфурола, альдегидов, уксусной кислоты, хлоридов кальция и аммония; добавление хлорида бария замедляет движение клеток. Элементоорганические соединения при определенных концентрациях могут действовать как стимуляторы их размножения. Поведенческие реакции, скорость размножения инфузорий используют для определения указанных выше веществ (табл. 1).

Водных беспозвоночных - ракообразных (чаще всего ветвистоусых рачков, дафний) широко применяют для оценки санитарно-гигиенического состояния вод. В качестве аналитического сигнала в этом случае используют некоторые физиологические показатели: выживаемость, поведенческие реакции, частоту движения ножек, период сокращения сердца (у дафний), окраску тел погибших организмов. Патологические процессы в организмах в зависимости от концентрации определяемого химического соединения могут протекать быстро: сначала наблюдается общее возбуждение, переходящее в депрессию, а затем в результате нарушения деятельности органов движения, дыхания, кровеносной и нервной систем наступают потеря подвижности и летальный исход.

Наиболее исследованными и используемыми в качестве ин-

дикаторных организмов являются дафнии, отличающиеся простотой круглогодичного культивирования в лабораторных условиях, высокой чувствительностью и избирательностью к действию различных токсичных органических соединений. К важным факторам относится также возможность автоматической регистрации ответного сигнала дафний на загрязнение окружающей среды. Изменение частоты движения грудных ножек *Daphnia magna*, так же как и изменение периода сокращения ее сердца, фиксируемое с помощью специальной аппаратуры, является критерием оценки чистоты вод. Регистрацию изменения скорости и траектории движения, фототаксического поведения насекомых (личинок комаров, жука долгоносика, дрозофилы), выживаемости этих организмов используют для определения остаточных количеств пестицидов в воде, экстрактах из почв, растительных и животных тканях.

Наблюдения под микроскопом формы и скорости движения червей, например, нематод, пиявок и коловраток, фиксирование продолжительности их жизни позволяют определять микроколичества ионов металлов. В зависимости от концентрации металла в растворе нематоды ведут себя по-разному: в разбавленных растворах они быстро изгибаются то в одну, то в другую сторону, совершая как бы S-образные движения; с повышением концентрации движения становятся вялыми, замедляются. При достижении определенной критической концентрации металла организмы могут погибнуть, о чем свидетельствует выпрямление их тел. Методами последовательного разбавления анализируемого раствора до отрицательной реакции нематод на введение ионов, а также фиксирования продолжительности их жизни в зависимости от концентрации ионов металлов возможно определение микрограммовых количеств серебра, кадмия, цинка и меди.

2.3.4 Использование позвоночных для определения микроколичеств элементов

Классическими индикаторными организмами, широко используемыми для решения многих медико-биологических проблем, являются амфибии. На изолированных органах и тканях лягушки *Rana ridibunda* либо на всем организме проверяется физио-

логическая активность многих фармацевтических препаратов. Биопотенциал нервной ткани можно использовать в качестве индикатора для определения концентрации кислот и щелочей, некоторых тяжелых металлов. По усилению либо угнетению биоэлектрической активности седалищного нерва лягушки можно оценить содержание хлорида марганца на уровне 1 нМ либо 1 мкМ соответственно. Примеры использования беспозвоночных и позвоночных организмов в качестве индикаторных для определения неорганических и органических соединений приведены в табл. 1.

В биологических методах анализа возможно использование вазомоторных реакций организма млекопитающих. Известны несколько путей, по которым реализуется действие химических соединений на тонус сосудов: мембрану гладкомышечных тканей, метаболизм сосудов, специфические клеточные рецепторы сосудов и т.д. Высокой чувствительностью к микроэлементам обладают мозговые сосуды, что позволяет определять следовые количества кадмия, ртути, свинца, марганца, кобальта, никеля, меди; при этом предел обнаружения, например, меди(II) составляет 0,6 нг.

Таким образом, биологические методы анализа, основанные на использовании в качестве аналитического сигнала специфических отклонений индикаторных организмов от нормы, позволяют с достаточно высокой чувствительностью определять широкий круг неорганических и органических физиологически активных соединений в различных объектах, прежде всего объектах окружающей среды, лекарственных препаратах. По чувствительности они превосходят химические методы, сопоставимы, как правило, с традиционными физическими методами анализа, уступая таким современным спектроскопическим методам, как атомная абсорбция с термической атомизацией, атомная эмиссия с возбуждением в высокочастотной плазме, методу инверсионной вольтамперометрии и некоторым другим. Важным преимуществом биологических методов является их простота, отсутствие дорогостоящего и сложного оборудования, необходимого для указанных выше методов. Избирательность этих методов, которая не всегда достаточно высока, может быть повышена обычными способами: разделением, маскированием, изменением параметров среды (рН, температуры). Биологические методы часто не являются экспрес-

ными, но их достоинства заключаются в том, что они не требуют специальной пробоподготовки и выделения определяемого соединения; позволяют проводить анализ вод, почв в экспедиционных условиях непосредственно на месте отбора проб. С их помощью возможно значительно упростить анализ самых разных, в частности природных, объектов, оценивая на первой его стадии степень общего загрязнения и общей токсичности объекта для живого организма и целесообразность его дальнейшего детального анализа другими более сложными и дорогостоящими методами.

Контрольные вопросы

1. На чем основываются биологические методы исследований? 2. Что означает индикаторный организм в биологических методах исследований? 3. Какие микроорганизмы наиболее часто используют в качестве индикаторных организмов? 4. Какие беспозвоночные организмы используются в качестве индикаторных? 5. Приведите примеры использования позвоночных для определения микроколичеств элементов. 6. Что означают понятия «биоиндикация», «биотестирование», «тест-объект»? 7. Назовите растения-биоиндикаторы загрязнений атмосферы. 8. Назовите растения-фитоиндикаторы уровня плодородия почвы.

2.4 МЕТОДЫ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ ПОЧВЫ

2.4.1 Санитарно-бактериологические показатели почвы и их нормирование

Санитарное состояние почвы – совокупность физико-химических, биологических свойств почвы, определяющих качество и степень ее безопасности в эпидемическом и гигиеническом отношении.

Состав микрофлоры почвы меняется в зависимости от ее глубины. В поверхностном слое почвы (0–10 см) количество микроорганизмов незначительно; это связано с губительным действием прямого солнечного света и низкой влажности почвы.

Максимальное количество микроорганизмов обнаруживается на глубине 10–30 см. На глубине 1 м выявляются единичные клетки бактерий. Наиболее богата микроорганизмами культурная возделываемая почва (до 5 млрд. клеток на 1 г почвы), наименее – почва, бедная влагой и органическими веществами (200 млн. клеток в 1 г).

Оценка санитарного состояния почвы проводится по результатам анализов почв на объектах повышенного риска (детские сады, игровые площадки, зоны санитарной охраны и т.п.) и в санитарно-защитных зонах по санитарно-бактериологическим показателям, которые делятся на косвенные и прямые:

1) Косвенные характеризуют интенсивность биологической нагрузки на почву. Это – санитарно-показательные микроорганизмы: бактерии группы кишечной палочки (общие колиформные бактерии) и энтерококки. В крупных городах с высокой плотностью населения биологическая нагрузка на почву очень велика и, как следствие, высоки индексы санитарно-показательных микроорганизмов, что наряду с санитарно-химическими показателями (динамика аммиака и нитратов, санитарное число) свидетельствует о неблагополучии и создании повышенного риска инфицирования. На свежее фекальное загрязнение почвы указывает наличие высокого индекса БГКП при низких титрах нитрификаторов, термофилов, а также относительно высокое содержание вегетативных форм *C. perfringens*. Обнаружение энтерококков всегда свидетельствует о свежем фекальном загрязнении, каковы бы ни были другие показатели.

2) Прямые санитарно-бактериологические показатели эпидемической опасности почвы - обнаружение возбудителей кишечных инфекций (патогенные энтеробактерии, энтеровирусы).

Результаты анализов оцениваются в соответствии с таблицей 15. Почву оценивают как «чистую» без ограничений по санитарно-бактериологическим показателям при отсутствии патогенных бактерий и индексе санитарно-показательных микроорганизмов до 10 клеток на 1 г почвы.

О возможности загрязнения почвы патогенными энтеробактериями свидетельствует индекс санитарно-показательных микроорганизмов БГКП (колиформ) и энтерококков 10 и более клеток/г почвы.

Таблица 15 – Оценка степени эпидемической опасности почвы

Категория загрязненности почв	Индекс БГКП	Индекс энтерококков	Патогенные бактерии, в т.ч. сальмонеллы	Яйца геогельминтов, экз./кг	Личинки - Л и куколки - К мух, экз. в почве с площадью 20 x 20 см
Чистая	1–10	1–10	0	0	0
Умеренно опасная	10–100	10–100	0	до 10	Л - до 10 К - отс.
Опасная	100–1000	100–1000	0	до 100	Л - до 100 К - до 10
Чрезвычайно опасная	1000 и выше	1000 и выше	0	> 100	Л > 100 К > 10

При необходимости углубленной оценки санитарного состояния почвы и способности ее к самоочищению исследуются показатели биологической активности почвы. Основными интегральными показателями биологической активности почвы являются: общая микробная численность (ОМЧ), клостридии, термофильные бактерии, грибы и актиномицеты, аммонификаторы, аэробные целлюлозные микроорганизмы и т.д.

Перечень показателей определяется целями исследования, природой и интенсивностью загрязнения, характером землепользования.

2.4.2 Отбор проб для бактериологического анализа

Контроль загрязнения почв населенных пунктов проводится с учетом функциональных зон города. Места отбора проб предварительно отмечаются на картосхеме, отражающей структуру городского ландшафта. Отбор проб осуществляется согласно

ГОСТ 17.4.4.01-83 «Общие требования к отбору проб почвы»; ГОСТ 17.4.4.02-84 «Методы отбора и подготовки проб для химического, бактериологического, гельминтологического анализа». На территорию, подлежащую контролю, составляют описание с указанием адреса, точки отбора, общего рельефа микрорайона, расположения мест отбора и источников загрязнения, растительного покрова, характера землепользования, уровня грунтовых вод, типа почвы и других данных, необходимых для правильной оценки и трактовки результатов анализов образцов.

Отбор проб для бактериологического анализа проводится не менее 1 раза в год в местах возможного нахождения людей, животных, в местах загрязнения органическими отходами. При изучении динамики самоочищения почвы отбор проводят в течение первого месяца еженедельно, а затем ежемесячно в течение вегетационного периода до завершения активной фазы самоочищения.

Пробная площадка – часть исследуемой территории, характеризующаяся сходными условиями (рельефом, однородностью структуры почвы и растительного покрова, характером хозяйственного использования).

Пробная площадка должна располагаться на типичном для изучаемой территории месте. На площади 100 м² закладывается одна пробная площадка размером 25 м. При неоднородности рельефа площадки выбирают по элементам рельефа.

Точечная проба – материал, взятый из одного места горизонта или одного слоя почвенного профиля, типичный для данного горизонта или слоя.

Точечные пробы отбирают на пробной площадке из одного или нескольких слоев или горизонтов методом конверта. Выкапывается шурф 0,3 м x 0,3 м и глубиной 0,2 м. Поверхность одной из стенок шурфа очищают стерильным ножом. Затем из этой стенки вырезают почвенный образец, размер которого обусловлен заданной навеской, так, если необходимо отобрать 200 г почвы, размер образца 20 см x 3 см x 3 см, 500 г - 20 см x 5 см x 3 см.

Точечные пробы отбирают ножом, шпателем или почвенным буром.

Объединенную пробу составляют путем смешивания точечных проб, отобранных на одной пробной площадке.

Для бактериологического анализа с одной пробной площадки составляют 10 объединенных проб. Каждую объединенную пробу составляют из трех точечных проб массой от 200 до 250 г каждая, отобранных послойно с глубины от 0 до 5 см, от 5 см до 20 см.

Пробы почвы, предназначенные для бактериологического анализа, в целях предотвращения их вторичного загрязнения следует отбирать с соблюдением правил асептики: отбирают стерильными инструментами, перемешивают на стерильной поверхности, помещая в стерильную тару. Время от отбора проб до начала их исследования не должно превышать 1 суток.

При изучении воздействия пестицидов и др. химических веществ на микрофлору и процессы самоочищения в более глубоких слоях почвы для отбора проб почвы пользуются шурфом глубиной до 1 м. Пробы отбирают из стенки шурфа стерильным инструментом через каждые 10 см.

Для контроля санитарного состояния почв детских дошкольных, школьных и лечебно-профилактических учреждений, игровых площадок и зон отдыха отбор проб проводят не менее 2-х раз в год - весной и осенью. Размер пробной площадки должен быть не более 5 x 5 м.

При контроле санитарного состояния почв территорий детских учреждений и игровых площадок отбор проб проводится отдельно из песочниц и с общей территории с глубины 0–10 см.

С каждой песочницы отбирается одна объединенная проба, составленная из 5 точечных проб. При необходимости возможен отбор одной объединенной пробы из всех песочниц каждой возрастной группы, составленной из 8–10 точечных проб.

Пробы почвы отбирают либо с игровых территорий каждой группы (одна объединенная из не менее пяти точечных), либо одна объединенная проба с общей территории из 10 точечных, при этом следует учитывать наиболее вероятные места загрязнения почв.

При контроле почв в районе точечных источников загрязнения (выгреба, мусоросборники и т.д.) пробные площадки размером не более 5 x 5 м закладываются на разном расстоянии от источника и в относительно чистом месте (контроль).

При изучении загрязнения почв транспортными магистра-

лями пробные площадки закладываются на придорожных полосах с учетом рельефа местности, растительного покрова, метеорологических 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 смешанная проба составляется из 20–25 точечных проб, отобранных с глубины 0–10 см.

При оценке почв сельскохозяйственных территорий пробы почвы отбирают 2 раза в год (весна, осень) с глубины 0–25 см. На каждые 0–15 га закладывается не менее 1 площадки размером 100–200 м² в зависимости от рельефа местности и условий землепользования.

На территории крупных городов с многочисленными источниками загрязнения проводят геохимическое картирование по сети апробирования. Для выявления очагов загрязнения рекомендуется плотность отбора 1–5 проб на 1 км² с расстоянием между точками отбора 400–1000 м. Для дальнейшего выделения территории с максимальной степенью загрязнения сеть апробирования сгущается до 25–30 проб на 1 км² с расстоянием между точками отбора около 200 м. Пробы отбирают с глубины 0–5 см.

Отобранные пробы необходимо пронумеровать и зарегистрировать в журнале, указав следующие данные: порядковый номер и место взятия пробы, рельеф местности, тип почвы, целевое назначение территории, вид загрязнения, дату отбора.

Пробы должны иметь этикетку с указанием места и даты отбора пробы, номера почвенного разреза, почвенной разности, горизонта и глубины взятия пробы, фамилии исследователя.

2.4.3 Подготовка и обработка почвы для анализа

Для приготовления среднего образца объемом 0,5 кг почву всех образцов одного участка высыпают на стерильный, плотный лист бумаги, тщательно перемешивают стерильным шпателем, отбрасывают камни и прочие твердые предметы. Если проба почвы однородна, допускается тщательное перемешивание почвы в банке. Затем почву распределяют на листе ровным тонким слоем в форме квадрата.

Диагоналями почву делят на 4 треугольника. Почву из двух

противоположных треугольников отбрасывают, а оставшуюся вновь перемешивают, опять распределяют тонким слоем и делят диагоналями и так до тех пор, пока не останется примерно 0,5 кг почвы.

Перед посевом почву просеивают через сито диаметром 3 мм. При просеивании сито покрывают сверху стерильной бумагой. Почву дисперсную можно не подвергать просеиванию, почву торфяную, содержащую большое количество органических веществ, предварительно растирают в ступке. Неперегнившую растительную массу отбрасывают.

Образец почвы тщательно перемешивают и из него отбирают навески, величины которых выбираются исходя из предполагаемой степени загрязнения почвы и планируемых определений. Для учета почвенных микроорганизмов достаточно навески от 1 до 10 г. В навеску почвы добавляют небольшое количество стерильной водопроводной воды до получения пастообразного состояния почвы, растирая ее в течение 5 минут. Из суспензии делают раститровку. Первое разведение навески почвы (1:10) делают в стерильной посуде, добавляя к суспензии стерильную водопроводную воду в соотношении 1:9 к весу почвы (например: 1 г почвенной суспензии разводят в 9,0 см³ стерильной водопроводной воды, 10 г почвы – в 90,0 см³ воды и т.д.). После приготовления разведений применяют соответствующую предварительную обработку почвы в зависимости от типа и вида учитываемого микроорганизма. Основная цель, которую преследуем, проводя предварительную обработку почвы, заключается в том, чтобы извлечь клетки микроорганизмов из почвенных агрегатов, что достигается разрушением последних и десорбцией микроорганизмов с поверхности почвенных частиц.

Основными приемами предварительной обработки почвы являются:

- 1) 10-минутное вертикальное встряхивание почвенной суспензии первого разведения в пробирках с резиновыми пробками - при навеске почвы 1 г;

- 2) 3-минутная обработка почвенной суспензии первого разведения на мешалке механического диспергатора - при навеске почвы более 1 г.

Почвенную суспензию, содержащую в 1,0 см³ 0,1 г почвы,

через 30 секунд после предварительной обработки (за это время оседают грубые минеральные частицы) используют для приготовления последовательно убывающих концентраций почвы. Для этого из первого разведения, находящегося во флаконе, с содержанием почвы 0,1 г (10^1) отбирают стерильной пипеткой 1,0 см³ и переносят в пробирку с 9,0 см³ стерильной водопроводной воды. При этом получают второе разведение, содержащее 0,01 г/см³ (10^2) почвы. Повторяя эту операцию, доводят разведение почвы до 0,0001 - 0,00001 г/см³. (10^4 – 10^5). Для приготовления каждого разведения используют отдельные пипетки.

Приготовленные разведения используются для посева на различные питательные среды, а также для учета численности микроорганизмов методом прямой микроскопии.

2.4.4 Определение общих колиформных бактерий (БГКП)

Бактерии группы кишечной палочки (БГКП) давно уже считаются удобными микробными индикаторами. Показатель «бактерии группы кишечных палочек» (БГКП) приведен в соответствии с принятой международной номенклатурой, который идентичен показателю «общие колиформные бактерии». К колиформам относятся грамотрицательные бактерии, имеющие форму палочек, способных развиваться в присутствии солей желчных кислот или других поверхностно-активных агентов с аналогичной способностью к подавлению роста и способных ферментировать лактозу при t (35–37 °С) с образованием кислоты, газа и альдегида, то есть на среде Эндо лактозоположительные колонии дают отпечаток в течение 24–48 ч. Они оксидазоотрицательные и не образуют спор.

Бактерии группы кишечной палочки включают следующие роды: эшерихия, клебсиелла, энтеробактер, цитробактер и серрации.

При анализе почв, для которых предполагается невысокая степень фекального загрязнения, рекомендуется проводить определение титрационным методом. В качестве ускоренного метода для анализа слабозагрязненных почв рекомендуется использовать метод мембранной фильтрации. При анализах проб с предполагаемой высокой степенью фекального загрязнения можно прово-

дить прямой поверхностный посев разведения суспензии на поверхность среды Эндо.

Для исследования используют предварительно подготовленные почвенные суспензии и разведения по описанной выше методике.

Титрационный метод определения индекса БГКП (колиформ) в почве. Из первого разведения почвенной суспензии (1:10), прошедшей предварительную обработку, стерильной пипеткой берут 10,0 см³, засевают во флаконы с 90,0 см³ жидкой лактозо-пептонной среды (ЛПС) или среды Кесслера, что соответствует засеву 1 г почвы. Соотношение между навеской почвы или ее эквивалентным разведением и питательной средой 1:9, а для сред двойной концентрации – 1:1.

Посев меньших количеств (0,01 г, 0,001 г, то есть 10², 10³ и т.д.) делают по 1,0 см³ из соответствующих разведений почвенной суспензии в пробирки с 9,0 см³ тех же сред. Титрование проводят до разведения 1:1000000, то есть 10⁶ с регулярной сменой пипеток при переходе от одного разведения к другому. Посевы инкубируют в течение 48 ч при (37 + 1) °С, через (24 + 2) ч инкубации проводят предварительную оценку посевов. Отсутствие газообразования и помутнения через 48 ч инкубации выдают окончательный отрицательный ответ.

При наличии в посевах признаков роста: помутнения и газообразования или только помутнения - производится высев на поверхность среды Эндо.

Чашки с посевами помещают в термостат на (18–24) ч при температуре (37 + 1) °С. При отсутствии роста на чашках выдают отрицательный ответ. При наличии на поверхности среды Эндо розовых или красных колоний, малиновых с металлическим блеском или без него проводят микроскопию колоний с последующей постановкой оксидазного теста. Оксидазный тест предназначается для дифференциации бактерий семейства Enterobacteriaceae от бактерий рода Pseudomonas и других видов сапрофитных бактерий. Микроскопирование и постановка оксидазного теста проводится по МУК 4.2.1018-01.

При наличии оксидазоотрицательных грам(-)палочек по 2–3 колонии каждого типа засевают параллельно в 2 пробирки в полужидкую или жидкую с поплавком среду с лактозой, разлитую в

пробирки в количестве 4,0–5,0 см³, для подтверждения ферментации лактозы при температуре (37 + 1) °С. Учет производят через 18 ч инкубации. Если за это время происходит образование кислоты и газа, это свидетельствует о наличии бактерий группы кишечных палочек. Признаком газообразования является появление пузырьков газа, об образовании кислоты свидетельствует изменение цвета среды. При появлении только кислоты пробирки оставляют в термостате для окончательного ответа еще на 24 ч, при отсутствии газообразования через этот срок выдают окончательный отрицательный ответ, при появлении газообразования – положительный ответ. После выявления БГКП устанавливают титр, при этом принимается то предельное разведение почвы, в котором обнаруживаются колиформы. Для перевода титра в индекс необходимо 1000 разделить на число, выражающее титр. Так, при титре 0,01 индекс равен 100, а при титре 0,1 индекс равен 10.

Определение БГКП в почве методом мембранной фильтрации. В качестве ускоренного метода для обнаружения колиформных бактерий целесообразно использовать метод мембранных фильтров.

Для микробиологических целей используются фильтры с диаметром пор 0,45 мкм и размером диска 35 или 47 мм и другие фильтрующие мембраны с аналогичной способностью фильтрации, имеющие сертификат качества. Метод основан на фильтрации установленного объема – 5,0–10,0 см³ почвенной суспензии первого разведения (1:10) – через мембранные фильтры, выращивании посевов на дифференциальной, питательной среде с лактозой и последующей идентификации колоний по культуральным и биохимическим свойствам. Для того чтобы облегчить фильтрование почвенной суспензии через мембранный фильтр, желательно до фильтрования провести предварительную обработку.

Мембранные фильтры должны быть подготовлены к анализу в соответствии с указаниями изготовителя.

Подготовка фильтровального аппарата. Воронку и столик фильтровального аппарата обтирают марлевым (ватным) тампоном, смоченным спиртом ректификованным, и фламбируют. После охлаждения на столик фильтровального аппарата кладут фламбированным пинцетом стерильный мембранный фильтр,

прижимают его воронкой.

В воронку прибора для фильтрации наливают отмеренный объем, затем создают вакуум.

При посеве нескольких объемов одной пробы следует фильтровать через один фильтровальный аппарат без обеззараживания сначала меньшие, а затем большие объемы, меняя каждый раз фильтры. Перед фильтрованием каждой новой пробы прибор обеззараживают.

Следует начинать с фильтрования проб, которые предположительно не загрязнены, а затем фильтровать загрязненные пробы. После окончания фильтрования и осушения фильтра отключают вакуум, воронку снимают, фильтр осторожно поднимают за край фламбированным пинцетом и переносят его, не переворачивая, на питательную среду Эндо с добавлением розоловой кислоты, разлитую в стерильные чашки Петри, избегая пузырьков воздуха между средой и фильтром. Эта среда используется только при работе методом мембранной фильтрации. Поверхность фильтра с осевшими на ней бактериями должна быть обращена вверх.

Под каждым фильтром на дне чашки делают надпись с указанием объема профильтрованной пробы, номера и даты посева. На одну чашку можно поместить 3-4 фильтра с условием, чтобы фильтры не соприкасались.

Чашки с фильтрами ставят в термостат дном вверх и инкубируют посеvy при температуре $(37 + 1) ^\circ\text{C}$ в течение $(24 + 2)$ ч.

Если на фильтрах нет роста или выросли колонии пленчатые, губчатые, плесневые, прозрачные, расплывчатые, выдают отрицательный ответ: отсутствие БГКП в исследуемой почве.

Анализ заканчивают через 24 ч.

Если на фильтрах обнаружен рост изолированных типичных лактозоположительных колоний: темно-красных, красных с металлическим блеском или без него или других подобного типа колоний с отпечатком на обратной стороне фильтра, подсчитывают число колоний каждого типа отдельно и приступают к подтверждению их принадлежности к БГКП.

Для подтверждения наличия БГКП исследуют:

- все колонии, если на фильтрах выросло менее 5 колоний;
- не менее 3-4 колоний каждого типа.

Каждую выбранную изолированную колонию исследуют на:

- наличие оксидазной активности;
- принадлежность к Граму (микроскопия окрашенного по Граму препарата или постановка теста Грегерсена);
- ферментацию лактозы до кислоты и газа.

Для расчета индекса количества бактерий группы кишечных палочек, выросших в анализируемом объеме почвы, умножают на 1000 и делят на этот объем.

Прямой поверхностный посев на агаризованные питательные среды для учета БГКП в почве. При анализе загрязненных и сильно загрязненных почв, отобранных в местах интенсивного фекального загрязнения, рекомендуется проводить прямой поверхностный посев почвенной суспензии в количестве 0,1 или 0,2 см³ на поверхность среды Эндо и немедленно равномерно распределять по поверхности шпателем. Посев при анализах сравнительно чистых почв производится из разведения от 1:10 до 1:1000, то есть от 10¹ до 10³. При работе с загрязненными почвами обычно используют разведения до 10⁶. Посевы выращивают в термостате при (37 + 1) °С в течение 24 ч. Следующий этап исследований заключается в идентификации выросших микроорганизмов, который проводится аналогично определению общих колиформных бактерий титрационным методом и подсчету количества колиформных бактерий в 1 г почвы, для чего среднее число колиформных колоний, выросших на чашке, умножается на степень десятикратного разведения.

2.4.5 Определение энтерококков

Энтерококки – грамположительные, не образующие каталазу кокки, слегка вытянутые, с заостренными концами, располагающиеся в виде диплококков или коротких цепочек, реже одиночными кокками. Полиморфны. При росте на жидких средах (ЛПС – лактозо-пептонная среда, ЩЭС – щелочно-полимиксиновая среда) вызывают диффузное помутнение и образование осадка.

Подготовка проб и приготовление разведений указаны выше.

Титрационный метод. Из разведений почвенной суспен-

зии, прошедшей предварительную обработку, стерильной пипеткой берут 10,0 см³ и засевают во флаконы с 50 см³ жидкой среды (ЛПС или ЩЭС). Посевы инкубируют при температуре (37 + 0,5) °С 24 ч. Из порции среды накопления, где отмечены признаки роста, производят высев петлей на одну из плотных сред (МИС - молочноингибиторная среда, ЖСТ - желточная среда Турчинского). Если через 24 ч признаки роста отсутствуют, посевы оставляют еще на сутки. В случае отсутствия роста дают отрицательный ответ.

Через 24–48 ч инкубации посевов на молочно-ингибиторной среде при температуре (37 + 0,5) °С в качестве положительных результатов отмечают наличие аспидно-черных, выпуклых с металлическим блеском или сероватых, мелких колоний. Эта среда позволяет дифференцировать виды энтерококков: *E. faecalis* образует аспидно-черные выпуклые колонии с металлическим блеском, *E. faecalis* биовар *liquefaciens* - такие же колонии, окруженные зоной просветления, *E. faecium* биовар *durans* - серые, мелкие, плоские колонии.

Для подтверждения наличия энтерококков делают микроскопию окрашенных по Граму мазков и каталазный тест. После выявления энтерококков устанавливают титр, при этом

принимается то предельное разведение почвы, в котором обнаруживаются колиформы. Для перевода титра в индекс необходимо 1000 разделить на число, выражающее титр. Так, при титре 0,01 индекс равен 100, а при титре 0,1 индекс равен 10.

Метод мембранных фильтров. Объем испытуемой пробы для посева выбирают с таким расчетом, чтобы не менее чем на 2-х фильтрах выросли изолированные колонии в количестве от 5 до 50.

Выполнение анализа

Через мембранные фильтры профильтровывают 2-3 десятикратных объема испытуемой пробы. Фильтры с посевом помещают на азидную среду или среду ЖСТ и инкубируют при температуре 37 + 0,5 °С в течение 24 - 48 часов.

Учет результатов на среде ЖСТ

Учет результатов на среде ЖСТ производят через 24 - 28 часов. Для учета выбирают фильтры, на которых выросло не более 20 - 30 колоний. Подсчитывают характерные для энтерококков

колонии: плоские крупные с ровными краями, белые или бледно-окрашенные с небольшим кремовым или розовым оттенком, а также малиновые. Последние образованы *E. faecalis*.

Если выросли колонии другого вида - выпуклые белые мелкие или ярко окрашенные, то их принадлежность к энтерококкам можно подтвердить по отсутствию каталазной активности и по характерной морфологии клеток при микроскопии мазков, окрашенных по Г рамму.

Каталазный тест можно выполнить путем нанесения петлей капли 3%-ной перекиси водорода на подозрительные колонии. Более точно каталазный тест выполняют на предметном стекле, нанося петлей культуру и после подсушивания на воздухе добавляя каплю свежеприготовленной 3%-ной перекиси водорода и прикрывая покровным стеклом. Наличие пузырьков газа - положительный тест.

Учет результатов на азидной среде

Для учета выбирают фильтры, на которых выросло от 5 до 50 колоний.

Подсчитывают колонии, характерные для энтерококков: выпуклые, с ровными краями, розовые, светло-розовые, равномерно окрашенные или с темно-красным нечетко оформленным центром.

Как правило, все колонии, которые растут на азидной среде, можно отнести к фекальным энтерококкам, имеющим индикаторное значение.

Очень мелкие (на пределе видимости невооруженным глазом), плоские разных оттенков колонии не учитывают.

При необходимости подтвердить наличие энтерококков по 2 - 3 колонии каждого типа микроскопируют после окраски по Г рамму.

При обнаружении в мазках грамположительных полиморфных диплококков дают положительный ответ.

Вычисление индекса энтерококков

Подсчитанное число колоний энтерококков суммируют и делят на объем, профильтрованный через фильтры, на которых велся подсчет.

Для расчета индекса количество колоний энтерококков суммируют, умножают на 1000 и делят на объем, профильтро-

ванный через фильтры, на которых велся подсчет.

2.4.6 Определение *CL perfringens* в почве

Сульфитредуцирующие клостридии - спорообразующие анаэробные палочковидные микроорганизмы, редуцирующие сульфит натрия на железосульфитном агаре при температуре $(44 + 1) ^\circ\text{C}$ в течение (16 -18) ч.

Метод основан на выращивании посевов в железосульфитном агаре в условиях, приближенных к анаэробным, и подсчете числа черных колоний.

Из приготовленных почвенных разведений (до $1:10^6$), прогретых при температуре $(75 + 5) ^\circ\text{C}$ в течение 20 минут для исключения вегетативных форм, по $1,0 \text{ см}^3$ переносится в два параллельных ряда пробирок. Затем во все пробирки наливают по 9 - 10 см^3 горячего железосульфитного агара, приготовленного ex tempore и прогретого до $70 - 80 ^\circ\text{C}$ (среду заливают по стенке пробирки, избегая образования пузырьков). Для создания анаэробных условий роста пробирки быстро охлаждают, помещая в емкости с холодной водой. Посевы инкубируют при $(44 + 1) ^\circ\text{C}$ в течение 16 - 18 часов. При росте в среде черных крупных колоний (грамположительные, каталазоотрицательные) выдают положительный ответ о присутствии *S. perfringens* в 1 г почвы.

Определение методом фильтрации в пробирках. Перед посевом пробирки с железосульфитным агаром расплавляют на водяной бане (не кипятить!). В течение посева поддерживают среду нагретой до $(70 - 80) ^\circ\text{C}$ в водяной бане.

После фильтрации установленного объема мембранный фильтр фламбированным пинцетом берут за два противоположных края и согнутый в виде трубочки помещают в пробирку с горячим агаром. Сторона фильтра с осевшими бактериями обращена внутрь. При этом фильтр распрямляется и располагается по стенке пробирки.

Сразу же после посева пробирку с агаром и фильтром для создания анаэробных условий быстро охлаждают, помещая в емкость с холодной водой. Культивируют посевы при $(44 + 1) ^\circ\text{C}$ в течение (16 - 18) ч.

Определение методом фильтрации в чашках Петри.

Чашки Петри заливают тонким слоем железосульфитного агара 4,0 - 5,0 см³. После фильтрации фильтр помещают фильтрующей поверхностью вниз на застывшую питательную среду так, чтобы под фильтром не было пузырьков воздуха. Затем заливают расплавленным железосульфитным агаром до верхнего края чашки, чтобы крышка плотно прилежала к среде для создания анаэробных условий. Культивируют посеvy при (44 + 1) °С в течение (16 - 18) ч.

Подсчитывают черные колонии, выросшие как на фильтрах, так и в толще питательной среды. При отсутствии роста на всех фильтрах - дают отрицательный ответ.

2.4.7 Показатели биологической активности почвы

Основными интегральными показателями биологической активности являются: общая микробная численность (ОМЧ), определение актиномицетов, аммонификаторов, нитрификаторов и др.

Определение общей численности почвенных микроорганизмов (ОМЧ). Для более полного учета общей численности сапрофитных микроорганизмов диспергирование и десорбцию клеток с поверхности почвенных частиц рекомендуется проводить следующим способом. Навеску почвы, используемую для приготовления первого разведения, доводят путем добавления небольшого количества стерильной водопроводной воды до пастообразного состояния, растирают в течение 5 минут. Затем готовят первое разведение (1:10), т.е. 10¹ почвы на стерильной водопроводной воде, и почвенная суспензия охлаждается при 5 - 7 °С в течение 20 - 30 мин., затем производят раститровку суспензии обычным способом. Из каждого разведения делают посев не менее двух объемов по 0,1 или 0,2 см³ на поверхность почвенного агара, разлитого в стерильные чашки Петри, и равномерно шпателем растирают по всей поверхности чашки. Термостатирование засеянных чашек ведут при (28 - 30) °С в течение 72 ч. Учет результата: количество колоний на обеих чашках суммируют, делят на два и умножают на степень разведения. Результат выражают числом колониеобразующих единиц (КОЕ в 1 г почвы).

Определение количества актиномицетов и грибов в поч-

ве. Актиномицеты (греч. Actis - луч, micos - гриб) - одноклеточные микроорганизмы, тело состоит из нетитрованного мицелия, который имеет вид ветвящихся тонких нитей. У актиномицетов, как и у бактерий, генетическую функцию выполняет нуклеоид. В нитях мицелия находятся зерна хроматина. Размножаются актиномицеты при помощи специальных органов плодоношения, путем прорастания спор, прикрепленных на спороносцах, простым делением, перешнурованием и почкованием.

Актиномицеты - факультативные анаэробы, хорошо развиваются при t 25 - 30 °С (оптимальная температура 35 - 37 °С) на плотных средах. Одни виды растут с образованием плотных гладких колоний, другие имеют складчатые, бугристые, корковидные, бархатистые, пушистые или мучнистые колонии, которые срастаются со средой и с трудом снимаются петлей.

Актиномицеты могут быть бесцветными или пигментированными (синие, фиолетовые, красные, желтые, оранжевые, зеленые и т.д.), на плотных питательных средах часто образуют воздушный мицелий, на концах которого развиваются споры, придающие колониям определенный цвет.

Грибы. Среди грибов встречаются сапрофиты и паразиты.

Наибольшее значение для медицины представляют оомицеты (Oomycetus), аскомицеты (Ascomycetes), базидиомицеты (Basidiomycetes), дейтеромицеты (Deuteromycetes), форма клеток у молодых культур может быть круглая, яйцевидная или удлиненная, у зрелых клеток - грушевидная, булавовидная, веретенообразная, амебовидная. Основным структурным компонентом клеток грибов является мицелий, состоящий из разветвленных бесцветных нитей (гиф). У одних видов он состоит из нерасчлененной клетки (micos), у других (высших грибов) он многоклеточный; у дрожжеподобных грибов (Candida) имеется псевдомицелий.

Установлена большая чувствительность почвенных актиномицетов и грибов к действию отдельных химических веществ по сравнению с почвенными споровыми и неспоровыми бактериями. Несомненно, что такая разбалансировка равновесия в почвенном микробиоценозе должна рассматриваться как отрицательное явление. Актиномицетам и грибам принадлежит большая роль в превращении широкого круга органических и минеральных ве-

ществ. Благодаря чрезвычайно выраженным антагонистическим и токсическим свойствам они оказывают большое влияние на формирование микробных почвенных биоценозов, являются продуцентами многих физиологических активных веществ: аминокислот, ферментов, витаминов.

Для учета почвенных актиномицетов и грибов используются те же разведения почвенной суспензии, что и при учете общей численности микроорганизмов. Как правило, для учета почвенных грибов используют разведение почвенной суспензии 1:10 - 1:100, то есть 10^1 - 10^3 , а при учете актиномицетов - 1:100 - 1:10000 (от 10^3 до 10^5). Посев производят поверхностным способом, нанося на агаризованные среды 0,1 - 0,05 см³ суспензии. Для учета актиномицетов используется чаще всего крахмало-аммиачный агар или агар Ваксмана, при учете грибов - сусло-агар или минеральная среда Чапека. При учете грибов используют добавление в среду веществ, ингибирующих рост бактерий, - концентрированную молочную кислоту в количестве 4 мл/л среды. Прибавлением такого количества кислоты доводят рН среды до 4,0 - 4,5. Кислота добавляется непосредственно перед посевом в расплавленную среду. Поскольку прибавляют концентрированные кислоты, то их предварительно не стерилизуют.

Определение аммонификаторов в почве. Аммонифицирующие микроорганизмы принимают участие в расщеплении белковых соединений до аммиака. Их учитывают на мясо-пептонном агаре, а при необходимости на жидких пептонных средах (мясо-пептонный бульон, пептонная вода) с индикаторными бумажками, определяющими аммиак. Для определения выделяющегося аммиака над средой в пробирке подвешивают красную лакмусовую бумажку (при выделении аммиака она синееет) или полоски фильтровальной бумаги, пропитанные реактивом Круппа (от аммиака краснеют). При выращивании почвенных суспензий на мясо-пептонном агаре результаты выражают в КОЕ (колониеобразующих единицах) на 1 г почвы. При определении этого показателя в жидких средах определяют титр, индекс аммонифицирующих микроорганизмов по последней пробирке, в которой еще обнаруживается аммиак (на 10-е сутки) после термостатирования при температуре 25 - 30 °С.

Определение токсичности почв по отношению к микро-

организмам. Метод определения степени токсичности почв к микроорганизмам используется в качестве быстрого и достаточно чувствительного теста для получения ориентировочных данных о способности почвы самоочищаться от патогенных и санитарно-показательных микроорганизмов. Кроме того, этот тест оказался также чувствительным при определении влияния химических веществ на почвенный микробиоценоз. Низкая степень токсичности или ее снижение по отношению к патогенным микроорганизмам свидетельствует о наличии или возникновении более благоприятных условий для выживания возбудителей в таких почвах. Это явление неблагоприятное по классам:

- 1 - отсутствие - 0 - 20% токсичных образцов,
- 2 - слабо выраженная - 21 - 40% токсичных образцов,
- 3 - средняя - 41 - 60% токсичных образцов,
- 4 - сильно выраженная - 61 - 80% токсичных образцов,
- 5 - абсолютная - 81 - 100% токсичных образцов.

Для определения токсичности почв можно использовать два метода - качественный и качественно-количественный.

Качественный метод определения токсичности почв. В стерильную чашку Петри вносится 10 г перемешанной и просеянной почвы и ровным слоем распределяется на половину дна чашки. На дне и крышке чашки записывается номер пробы по журналу и тест-микроорганизм. Затем чашки переносят в бокс и устанавливают на ровной поверхности. Чашки с почвой заливают 1,5%-ным непитательным агаром в количестве около 10,0 см³ с таким расчетом, чтобы он покрыл слой почвы. После его застывания в чашки вносится питательный агар также в количестве 10 см³, адекватный тест-микроорганизмам. Из одного почвенного образца готовятся 2 параллельные чашки к каждому микроорганизму. Чашки высушивают под бактерицидными лампами в течение 30 минут. Затем производится посев индикаторных штаммов микроорганизмов.

Посевы производятся петлей, причем движения петли всегда начинают с той части чашки, на которой помещена почва. В качестве контроля производят посевы тех же культур на аналогичные среды, но без почвы.

Посевы инкубируют в зависимости от вида индикаторного микроорганизма. Учет результатов начинается с просмотра кон-

трольного посева. В случае равномерного роста тест-микроба на всей поверхности агаровой пластинки просматривают остальные чашки с посевами. Колонии идентифицируются по "форме роста". Кроме того, из каждой серии посевов с нескольких чашек снимают колонии и производят их идентификацию.

Рост колоний только на участке агаровой пластинки, под которой нет почвы, показывает, что исследованный почвенный образец токсичен (Т). При исследовании некоторых почвенных проб отмечается частичное ингибирование роста тест-микроба. В этих случаях регистрируется маловыраженная токсичность (М/Т).

Качественно-количественный метод определения токсичности почв. В стерильную чашку Петри также вносится 10 г почвы и распределяется равномерно по всей поверхности, затем, как и при качественном методе, вносится непитательный и питательный агар. В качестве дополнительного барьера между почвой и индикаторным штаммом на поверхности питательной среды укладывают мембранный фильтр.

На матовую поверхность мембранных фильтров простым карандашом наносятся 16 точек, после чего фильтр стерилизуют кипячением. Затем на питательную среду помещают мембранные фильтры (матовой поверхностью вверх) в количестве от 1 до 4-х на одну чашку. На поверхность фильтра в местах, отмеченных точками, производят посев бактериальной петлей (иглой) культуры индикаторного штамма, суспензированного в физиологическом растворе, содержащем около 100 млн. бактериальных клеток в 1 мл по оптическому стандарту мутности. Эта манипуляция упрощается при использовании специального штампа в виде металлического диска диаметром около 30 мм. В диск вмонтированы 16 стальных игл строго одинаковой длины и толщины. Культуры микроорганизмов наливают в чашки Петри и погружают в них кончики игл стерильного штампа, а затем одновременно производится посев в 16 точках мембранного фильтра. Посевы инкубируют в термостате или анаэроустате при оптимальной температуре и продолжительности в зависимости от физиологических особенностей индикаторного штамма.

Учет результатов производят путем подсчета выросших колоний в точках посева. Процент пророста (Р) высчитывается как количество образовавшихся колоний к количеству посевов. Ток-

сичность определяется по формуле: $T = 100 - P$. Этим методом, как и качественным, устанавливается абсолютная токсичность, когда на фильтрах не вырастает ни одна колония; отсутствие токсичности - на метах всех посевов вырастают колонии и различная степень токсичности - когда прорастает только часть засеянных точек.

2.4.8 Определение патогенных энтеробактерий родов *Salmonella* и *Shigella* в 1 г почвы

Сущность определения шигелл и сальмонелл заключается в использовании методов накопления патогенных бактерий в средах обогащения с последующим пересевом на плотные селективные и дифференциальные среды с последующим изучением биохимических свойств выделенных культур и их серологическую идентификацию по методике.

Используют не менее двух сред накопления из перечисленных: среду Мюллера Кауфмана, селенитовый бульон, магниевую среду, тетратионовый бульон. Для сальмонелл используют любые две среды из четырех, для шигелл - селенитовую среду.

Проведение исследования аналогично исследованию на колиформы.

Посевы инкубируют при $(37 + 1 \text{ }^\circ\text{C})$ в течение 18-24 часов, затем из каждого флакона делают высевы бактериологической петлей на чашки с плотными селективными средами: для сальмонелл - на висмут-сульфитный агар, ксилозо-лизин-дезоксихалатный агар, для шигелл на бактоагар Плоскирева, среду Эндо или ксилозо-лизин-дезоксихалатный агар. Чашки с посевами инкубируют при температуре $(37 + 1 \text{ }^\circ\text{C})$ в течение 18-20 часов, а в случае отсутствия роста чашки с посевами оставляют еще на 24 часа в термостате. С каждой чашки снимают подозрительные на сальмонеллы и шигеллы колонии в пробирки с дифференциальнодиагностическими средами. Окончательное определение биохимических и серологических свойств, био- и сероваров проводят по действующим МУ 17.04-23/307-84 «Микробиологическая диагностика заболеваний, вызываемых энтеробактериями».

Контрольные вопросы

1. Что означает понятие санитарное состояние почвы? 2. Какие санитарно-бактериологические показатели являются косвенными? 3. Назовите прямые бактериологические показатели почвы. 4. Дайте оценку степени эпидемиологической опасности почвы. 5. Как проводится отбор проб для бактериологического анализа? 6. Перечислите этапы подготовки и обработки почвы для бактериологического анализа. 7. Назовите основные интегральные показатели биологической активности почвы. 8. Как определяется степень токсичности почв?

СЛОВАРЬ ТЕРМИНОВ И ПОНЯТИЙ

Абсорбция – процесс избирательного поглощения компонентов газовой смеси жидким поглотителем (абсорбентом). Процесс абсорбции происходит в том случае, когда парциальное давление извлекаемого компонента в газовой смеси выше, чем в жидком абсорбенте, вступающем в контакт с этим газом, т.е. для протекания абсорбции необходимо, чтобы газ и абсорбент не находились в состоянии равновесия.

Адсорбенты – материалы, обычно имеющие большую удельную поверхность, которые адсорбируют органические пары сильнее, чем газ-носитель. Значение константы адсорбции зависит от строения, молекулярной массы, поляризуемости и дипольного момента молекул пара, поэтому оно отличается от вещества к веществу, делая возможным разделение. Самыми полезными адсорбентами в хроматографии являются: графитированная сажа, силикагель, цеолиты (молекулярные сита), оксид алюминия, пористые полимеры и активные угли.

Адсорбционная хроматография – вид хроматографии, в котором разделение компонент смеси основано на различной сорбционной способности (адсорбции) компонент на поверхности твердой фазы.

Адсорбция – поглощение какого-либо вещества (адсорбата) из газообразной среды или раствора поверхностным слоем жидкости или твердого тела (адсорбентом). Различают два вида адсорбции: физическую и химическую (хемосорбцию). Менее прочная физическая адсорбция не сопровождается существенными изменениями молекул адсорбата. Она обусловлена силами межмолекулярного взаимодействия, которые связывают молекулы в жидкостях и некоторых кристаллах и проявляются в поведении сильно сжатых газов. Существенное отличие физической адсорбции – ее обратимость.

Адсорбционная спектроскопия – спектроскопия, в которой анализируется поглощение излучения исследуемым образцом.

Активность компонента раствора (молекулы, иона) – эффективная (кажущаяся) концентрация компонента с учётом различных взаимодействий между компонентом и другими частицами в растворе, то есть с учётом отклонения поведения си-

стемы от модели идеального раствора.

Аналит – определяемое вещество.

Анион – отрицательно заряженный ион.

Анод – положительно заряженный электрод.

Атомизация – процесс разложения молекул на составляющие их атомы.

Атомно-адсорбционная спектроскопия – это метод количественного элементного анализа, основанный на измерении поглощения атомным паром монохроматического излучения, энергия кванта $h\nu$ которого соответствует резонансному переходу в атомах определяемого элемента.

Атомно-флуоресцентная спектроскопия – спектроскопия, где нейтральные атомы анализируемого элемента в газовой фазе возбуждаются в ячейке атомизации внешним источником света, как и в атомной абсорбции, измеряется доля энергии, испускаемая возбужденными атомами, претерпевающими переход в основное состояние путем излучения, как в атомной эмиссии.

Атомно-эмиссионная спектроскопия – совокупность методов элементного анализа, основанных на изучении спектров испускания свободных атомов и ионов в газовой фазе.

Базовый пик (base peak) – в хроматографии и масс-спектрометрии максимальный по интенсивности пик, обычно относительно него в процентах (%) определяется интенсивность остальных пиков.

Ближняя ИК-область (NIR) – диапазон инфракрасного излучения, характеризующийся длиной волны 1 – 5 мкм (волновое число 10000-2000 cm^{-1})

Бора первый постулат – в атоме существуют стационарные (не изменяющиеся со временем) состояния, в которых он не излучает энергии. Стационарным состояниям атома соответствуют стационарные орбиты, по которым движутся электроны. Движение электронов по стационарным орбитам не сопровождается излучением электромагнитных волн.

Бора второй постулат – При переходе электрона с одной стационарной орбиты на другую излучается (поглощается) один фотон с энергией $h\nu = E_n - E_m$, равной разности энергий соответствующих стационарных состояний. При $E_m < E_n$ происходит излучение фотона, при $E_m > E_n$ – его поглощение. Набор возможных

дискретных частот $\nu = (E_n - E_m)/h$ квантовых переходов и определяет линейчатый спектр атома.

Бугера-Ламберта-Бера закон – закон, определяющий линейную зависимость оптической плотности раствора от концентрации растворенного в нем поглощающего вещества: $D = \epsilon \times C \times l$, где D – оптическая плотность, C – концентрация, l – толщина кюветы с раствором.

Водородный показатель, рН – в электрохимических методах анализа показатель, характеризующий концентрацию ионов водорода в растворе, определяется как отрицательный десятичный логарифм молярной концентрации ионов водорода. Чем ниже рН, тем выше концентрация ионов водорода и кислее среда.

Водородный электрод – электрод, измеряющий потенциал пары $2H^+/H_2$. При стандартных условиях (давление газа водорода 1 атм., температура раствора 25 °С, концентрация ионов водорода H^+ 1 моль/л) потенциал этого электрода принят равным нулю и относительно него определяются потенциалы всех остальных электродов.

Вольтамперометрия – группа методов в электрохимическом анализе, основанная на измерении потенциала электродов или силы тока, проходящей через электрохимическую систему, при приложении внешнего напряжения или силы тока.

Воспроизводимость – характеристика метода анализа, показывающая, насколько точно повторяются экспериментальные результаты анализа одной и той же пробы образца.

Восстановитель – вещество/частица, которые в ходе окислительно-восстановительной реакции отдают электроны, при этом окисляясь.

Время удержания (retention time) – время между моментом ввода образца и моментом выхода вещества из хроматографической колонки.

Воспроизводимость – характеристика метода анализа, показывающая, насколько точно повторяются экспериментальные результаты анализа одной и той же пробы образца.

Вращательный спектр – молекулярный спектр, обусловленный квантовыми переходами между дискретными вращательными энергетическими состояниями молекул.

Времяпролетный масс-анализатор (Time-Of-Flight, TOF) – в масс-спектрометрии устройство для разделения ионного пучка по массам за счет разных скоростей частиц с различной массой, но одинаковой кинетической энергией.

Вудворда-Физера правило – правило расчета длины волны для полосы поглощения в УФ-спектроскопии замещенных диенов. Расчет производится за счет суммирования коэффициентов, соответствующих различным заместителям.

Высокоэффективная жидкостная хроматография, ВЭЖХ (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) – метод жидкостной хроматографии, основанный на применении колонок с мелкодисперсной неподвижной фазой и прокачивании элюента под большим давлением.

Газожидкостная хроматография (Gas-Liquid Chromatography, GLC) – вид хроматографии, в котором в качестве подвижной фазы используется газ, а в качестве неподвижной фазы – нелетучая жидкость.

Газовый хроматограф – прибор для проведения газового хроматографического анализа. Состоит из системы подвода газа-элюента, инжектора, хроматографической колонки, помещенной в термостат, и детектирующей системы.

Газовая хроматография (Gas Chromatography, GC) – вид хроматографии, в которой в качестве подвижной фазы (элюента) выступает газ.

Гамма-излучение (гамма-лучи, γ -лучи) – вид электромагнитного излучения с чрезвычайно малой длиной волны – менее $2 \cdot 10^{-10}$ м. Гамма-квантами являются фотоны с высокой энергией. Считается, что энергии квантов гамма-излучения превышают 105 эВ, хотя резкая граница между гамма- и рентгеновским излучением не определена.

Датчик – автоматическое устройство, регистрирующее аналитический сигнал.

Двухатомные спирты – соединения, в молекуле которых присутствует две спиртовых (гидроксильных) группы.

Детектор – устройство, предназначенное для определения аналитического сигнала.

Дисперсия света – это явление, обусловленное зависимостью абсолютного показателя преломления вещества от частоты

(или длины волны) света (частотная дисперсия), или, то же самое, зависимость фазовой скорости света в веществе от длины волны (или частоты). Один из самых наглядных примеров дисперсии — разложение белого света при прохождении его через призму (опыт Ньютона).

Дистилляционный метод - основаны на разной летучести веществ. Вещество переходит из жидкого состояния в газообразное, а затем конденсируется, образуя снова жидкую или иногда твердую фазу.

Диффузионный потенциал (diffusion potential) – разность потенциалов на границе двух соприкасающихся растворов электролитов (например, у солевого моста или в конструкции электродов). Обусловлен тем, что скорости переноса катионов и анионов через границу, вызванного различием их электрохимических потенциалов в растворах 1 и 2, различны. Наличие диффузионного потенциала может вызывать погрешность при измерениях электродного потенциала, поэтому диффузионный потенциал стремятся рассчитать или устранить.

Диффузионный ток (diffusion current) – электрический ток, возникающий за счет переноса ионов к катоду полярографа/вольтамперметра.

Диффузия (diffusion) – процесс медленного пространственного дрейфа молекул, обусловленного их постоянными, случайными перемещениями, известными как броуновское движение. Молекулы дрейфуют в сторону от своего первоначального положения в пространстве. Статистический результат будет иметь суммарный дрейф от областей высокой концентрации к областям меньшей концентрации. Диффузия определяется законом Фика, который формулирует, что диффузионный поток или результирующий дрейф (число молекул, пересекающих единицу поверхности в единицу времени) пропорционален градиенту концентрации. Коэффициент пропорциональности есть коэффициент диффузии. Символ: D_e или D_i . Единица измерения: $\text{см}^2/\text{с}$.

Жидкостный хроматограф – устройство для проведения жидкостного хроматографического анализа. Состоит из системы подвода и подготовки растворителя-элюента, устройства ввода образца, насосной системы, обеспечивающей прокачку пробы под большим давлением (от нескольких единиц до нескольких

сотен атмосфер), хроматографической колонки, помещенной в термостат, и детектирующей системы.

Жидкостная хроматография (Liquid Chromatography, LC) – вид хроматографии, в которой в качестве подвижной фазы (элюента) выступает жидкость.

Изомеры – соединения, обладающие одинаковой молекулярной формулой, но разным строением. Различают позиционную изомерию (атомы по разному соединены в молекуле), геометрическую (пространственную) изомерию (порядок связей в молекуле одинаков, а расположение в пространстве – различное) и оптическую изомерию (разновидность геометрической изомерии). Оптические изомеры отличаются тем, что являются зеркальным изображением друг друга несовместимыми в пространстве.

Изотопный анализ – раздел масс-спектрометрии, изучающий изотопный состав соединений.

Изотопные пики – в масс-спектрометрии пики в масс-спектре, обусловленные наличием в природных элементах нескольких изотопов. Анализ кластеров изотопных пиков даже на низком разрешении позволяет определить брутто-формулу соединения или его фрагмента.

Изотопы – атомы элемента, имеющие одинаковое количество протонов в ядре, но разное количество нейтронов, в результате чего эти атомы имеют разную массу.

ИК-спектроскопия – раздел спектроскопии, охватывающий длинноволновую область спектра (>730 нм за красной границей видимого света). Инфракрасные спектры возникают в результате колебательного (отчасти вращательного) движения молекул, а именно — в результате переходов между колебательными уровнями основного электронного состояния молекул.

Индикаторный электрод – электрод, потенциал которого определяет активность анализируемого иона в соответствии с уравнением Нернста.

Интерферометр – измерительный прибор, принцип действия которого основан на явлении интерференции. Принцип действия интерферометра заключается в следующем: пучок электромагнитного излучения (света, радиоволн и т. п.) с помощью того или иного устройства пространственно разделяется на два

или большее количество пучков. Каждый из пучков проходит различные оптические пути и возвращается на экран, создавая интерференционную картину, по которой можно установить смещение фаз пучков.

Ион (ion) – заряженная частица, состоящая из одного или нескольких атомов, образуемая путем удаления или присоединения электронов.

Ион-селективный электрод – в электрохимических методах анализа электрод, потенциал которого обратимо (в соответствии с уравнением Нернста) зависит от концентрации определенного иона в растворе.

Иономер – прибор для проведения потенциометрического анализа, конструктивно состоящий из измерительного блока – вольтметра с высоким внутренним сопротивлением и электрохимической ячейки с двумя электродами (индикаторным и сравнения).

Ион-циклотронного резонанса анализатор – в масс-спектрометрии устройство для разделения ионного пучка по массам за счет разных траекторий частиц с различной массой в магнитном поле, создаваемом циклотроном – прибором на основе сверхпроводящего магнита. Отличается очень высоким (достигнуто более 1 000 000) разрешением.

Ионизация (ionization) – процесс образования заряженных частиц (ионов) из молекул.

Ионная ловушка (ion trap) – в масс-спектрометрии устройство для разделения ионного пучка по массам за счет разных траекторий частиц с различной массой в магнитном поле создаваемом электромагнитом специальной конструкции, обеспечивающем круговое движение пучка ионов.

Ионно-обменная (ионообменная) хроматография – вид хроматографии, в котором разделение происходит на основании различной способности компонентов смеси к ионному обмену с фазой, на которой привиты группы $-\text{SO}_3^-$, $-\text{PO}_3^{2-}$, $-\text{N}(\text{CH}_3)_3^+$.

Ионный источник (ion cell, ion source) – устройство в масс-спектрометре, в котором происходит ионизация исследуемых соединений.

Каломельный электрод – состоит из металлической ртути, которая находится на дне сосуда, слой ртути покрыт сверху пастой из каломели – малорастворимой соли ртути Hg_2Cl_2 , над пас-

той находится раствор хлорида щелочного металла. Широко применяется как электрод сравнения.

Катион – положительно заряженный ион.

Катод (cathode) – отрицательно заряженный электрод.

Качественный анализ – разновидность анализа, задачей которого является установления характера анализируемого образца – какие именно вещества входят в его состав.

Камера столкновений (collision cell) – в масс-спектрометрии устройство, используемое в МС-МС-экспериментах для того, чтобы сообщить выбранному для исследования иону определенную энергию путем столкновения иона с потоком ионизированных молекул газа (как правило, азота или аргона).

Капиллярная колонка – вид колонок в газовой хроматографии, отличается малым диаметром (порядка 100-500 мкм), большой длиной (до 100 м и более), что обеспечивает хорошее разделение компонент и требует малый (порядка 0,1-10 мкл) объем проб.

Катализатор – вещество ускоряющее протекание реакции и при этом не расходующееся. Остальные параметры реакции (тепловой эффект, положение равновесия для обратимых реакций) при этом не изменяются.

Качественный анализ – анализ, показывающий, какие компоненты включает анализируемый объект.

Квантовое состояние - любое возможное состояние, в котором может находиться квантовая система. Чистое квантовое состояние может быть описано набором квантовых чисел.

Квантовое число в квантовой механике — характеризует численное значение какой-либо квантованной переменной микроскопического объекта (элементарной частицы, ядра, атома и т. д.), характеризующее состояние частицы. Задание квантовых чисел полностью характеризует состояние частицы.

Квантовый переход - скачкообразный переход квантовой системы (атома, молекулы, атомного ядра, твёрдого тела) из одного состояния в другое, с одного уровня энергии на другой.

Колебательный спектр - молекулярный спектр, обусловленный квантовыми переходами между дискретными колебательными состояниями молекул.

Квартование – способ пробоподготовки. При квартовании пробу раскладывают равномерным слоем в виде квадрата и делят диагоналями на четыре треугольника. Две противоположные части отбрасывают, а две другие соединяют, ещё раз измельчают и снова проводят квартование.

Кислотность – термодинамический параметр, характеризующий положение кислотно-основного равновесия.

Конечная точка титрования (КТТ) – в электрохимических методах анализа объем добавленного титранта, после которого уже не происходит изменения измеряемого свойства раствора.

Концентрационная поляризация – в электрохимии поляризация электрода, связанная с изменением концентрации потенциалопределяющих ионов на границе раздела «металл-электролит».

Концентрация – содержание вещества в образце.

Количественный анализ – анализ, дающий сведения о количественном содержании всех или отдельных компонентов.

Концентрирование - это операция (процесс), в результате которой повышается отношение концентрации или количества микрокомпонентов к концентрации или количеству макрокомпонента.

Лазерная десорбция (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization, MALDI) – метод ионизации в масс-спектрометрии, при котором испарение и ионизация образца труднолетучего вещества происходит при лазерном нагреве образца, полученного смешением труднолетучего вещества и так называемого вещества-матрицы, легко испаряющегося и не взаимодействующего с образцом.

Люминесценция – нетепловое свечение вещества, происходящее после поглощения им энергии возбуждения.

Магнитный анализатор – в масс-спектрометрии устройство для разделения ионного пучка по массам за счет разных траекторий частиц с различной массой в магнитном поле, создаваемом постоянным или электромагнитом. Исторически первый тип масс-анализатора.

Масс-анализатор – в масс-спектрометре устройство, разделяющее поток ионов в зависимости от их массы, используя различие в их движении и траектории в электрическом или магнит-

ном поле.

Масс-спектр – характеристика вещества, получающаяся при его ионизации и разделении ионизованных фрагментов вещества по массам. Масс-спектр вещества, записанный при энергии ионизации 70 эВ, является индивидуальной характеристикой вещества и пригоден для качественной характеристики образца.

Массовая доля – способ выражения концентрации вещества, показывающий отношение массы растворенного вещества к общей массе образца.

Масс-спектрометр, масс-спектрометрический детектор – прибор для регистрации масс-спектров соединений. Различаются типом разделения ионов, методами ионизации и ввода образца.

Масс-спектрометрия – метод анализа, основанный на получении масс-спектров веществ и их смесей.

Масс-спектрометрия высокого разрешения (High Resolution Mass-Spectrometry, HRMS) – масс-спектрометрия с разрешением более 5000. Помимо записи масс-спектра позволяет точно (до четвертого знака после запятой) определять массу частиц, что определяет брутто-формулу частицы.

Масс-спектрометрия низкого разрешения – масс-спектрометрия с разрешением до 2000. Позволяет получить масс-спектр соединений.

Метилирование – один из способов пробоподготовки для образцов веществ, заключающийся в получении метильных ($-CH_3$) производных спиртов и кислот, которые иначе не могли бы быть проанализированы методом газовой хроматографии из-за их низкой летучести, например, сахаров.

Метод внутреннего стандарта – метод количественного анализа, который включает добавление к пробе образца определенного количества другого соединения, относительно хроматографического пика которого и происходит определение содержания исследуемого вещества в образце. Вещество (вещества), используемое в качестве внутреннего стандарта, должно быть химически сходно с анализируемыми веществами, иметь близкое время удержания, но хорошо отделяться от всех других компонентов.

Метод градуировочного графика – метод количественного анализа, в котором величина аналитического сигнала аналита не-

известной концентрации сопоставляется с графической зависимостью величины аналитического сигнала от концентрации аналита, построенной на основе измерений образцов с известной концентрацией аналита.

Метод стандартных добавок – метод количественного анализа, который включает приготовление дополнительных проб посредством добавления известных количеств определяемого количественно компонента к исходной смеси. Если детектор является линейным, калибровка не обязательна. Метод применим только к смесям с низким давлением пара, очень трудоемок и отнимает много времени.

Мембранный потенциал – в электрохимии разность потенциалов между двумя растворами, разделенными мембраной, возникающая за счет разной диффузионной способности положительных и отрицательных ионов, в результате чего с одной стороны будет избыток положительных ионов, с другой – отрицательных.

Микроэлектроды – электроды для электрохимических методов анализа, имеющие малые (порядка микрометров) размеры чувствительных элементов. Применяются в нанотехнологии, медицинских и биологических исследованиях.

Микрошприцы – устройства для введения пробы в хроматограф, дозируемые объемы проб от 0,1 до 250 мкл. Воспроизводимость введения пробы составляет 1,5-2%.

Многозарядные ионы – в масс-спектрометрии ионы, имеющие заряд более 2 и более атомных единиц заряда (заряда электрона). Часто возникают в методах ионизации электроспреем.

Молекулярный ион – в масс-спектре вещества ион, имеющий массу ($M \pm m_e$), где M – масса нейтральной молекулы вещества, m_e – масса электрона, которая отнимается при образовании положительного иона или прибавляется при образовании отрицательного иона. По характеру пика молекулярного иона и его изотопных пиков, а также по точной массе молекулярного иона можно судить о брутто-формуле вещества.

Молекулярная масса – масса молекулы, является суммой масс всех входящих в молекулу атомов. В масс-спектрометрии низкого разрешения молекулярная масса обычно эксперимен-

тально определяется до целых величин, в масс-спектрометрии высокого разрешения молекулярная масса может быть экспериментально определена с точностью до пятого знака после запятой.

Молярность (Молярная концентрация) – способ выражения концентрации раствора, показывающий количество растворённого вещества (число молей) в единице объёма раствора.

Монохроматор – спектральный оптико-механический прибор, предназначенный для выделения монохроматического излучения. Принцип работы основан на дисперсии света.

Микроволновое излучение – электромагнитное излучение, включающее в себя дециметровый, сантиметровой и миллиметровый диапазон радиоволн (длина волны от 1 м — частота 300 МГц до 1 мм — 300 ГГц).

Мультиплетность состояния – величина, характеризующая спин атома или молекулы. Мультиплетность рассчитывается

по формуле:

$$M = 2 \sum_{n=1}^N s + 1,$$

Набивная (насадочная) колонка – в хроматографии колонка с большим внутренним диаметром, позволяет заполнять ее разными видами сорбентов или менять их по мере необходимости. Применяются и в газовой, и в жидкостной хроматографии.

Неподвижная фаза – в хроматографии: слой вещества-сорбента, как правило, твердого или гелеобразного, сорбирующий из потока подвижной фазы (т.н. элюента) разделяемые вещества. Характер неподвижной фазы, ее состав определяют ее способность эффективно разделять те или иные компоненты смесей.

Объем удержания (retention volume) – объем газа/жидкости-носителя, который проходит по хроматографической колонке с момента ввода анализируемой пробы в колонку до момента выхода вершины пика вещества из колонки. При неизменных условиях эксперимента является постоянной величиной.

Оксид алюминия (оксид алюминия) – твердое вещество, Al_2O_3 , распространенный сорбент в хроматографии.

Окислитель – вещество/частица, которые в ходе окислительно-восстановительной реакции принимают электроны, при этом восстанавливаясь.

Окислительно-восстановительная реакция – химическая реакция, происходящая с изменением степеней окисления у атомов участвующих в ней веществ.

Оптическая плотность – мера ослабления света прозрачными объектами (такими, как кристаллы, стекла, фотоплёнка) или отражения света непрозрачными объектами (такими, как фотография, металлы и т. д.).

Осаждение – метод разделения, как правило, применяющийся для разделения неорганических веществ. Осаждение микрокомпонентов органическими реагентами, и особенно их соосаждение, обеспечивают высокий коэффициент концентрирования. Эти методы используют в комбинации с такими методами определения, которые рассчитаны на получение аналитического сигнала от твердых образцов. Разделение путем осаждения основано на различной растворимости соединений, преимущественно в водных растворах.

Отгонка – одноступенчатый процесс разделения и концентрирования. При выпаривании удаляются вещества, которые находятся в форме готовых летучих соединений. Это могут быть макрокомпоненты и микрокомпоненты, отгонку последних применяют реже.

Перегруппировочные ионы – в масс-спектрометрии ионы, образующиеся из первоначальной молекулы, путем перестройки ее геометрии.

Пламенно-ионизационный детектор (ПИД) – вид детекторов в газовой хроматографии, принцип действия – измерение электропроводности в водородно-кислородном пламени, при попадании в пламя веществ из колонки резко меняется электропроводность, что фиксируется детектором.

Пламенно-фотометрический детектор (ПФД) – является селективным по отношению к фосфор- и серосодержащим веществам. Принцип действия основан на измерении свечения водородного пламени при сгорании в нем фосфор- и серосодержащих соединений.

Погрешность измерения – оценка отклонения измеренного значения величины от её истинного значения. Погрешность измерения является характеристикой (мерой) точности измерения.

Подвижная фаза – в хроматографии: газ или жидкость,

протекающие через неподвижную фазу и переносящие в своем потоке разделяемые вещества.

Полевая десорбция (Field Desorption, FD) – в масс-спектрометрии метод ионизации, при котором образование ионов вещества происходит за счет туннелирования электронов от вещества, нанесенного на тонкие иглы положительно заряженного электрода в камере с высокой напряженностью электрического поля. В результате молекула образца приобретает положительный заряд и отталкивается от поверхности, переходя в газовую фазу.

Полихроматор – спектральный оптико-механический прибор, предназначенный для выделения монохроматического излучения. В отличие от монохроматора, содержит несколько выходных щелей, позволяющих регистрировать различные диапазоны электромагнитного излучения.

Поляризация – явления, происходящие на электродах при прохождении электрического тока через электрохимическую систему.

Полярограф – прибор для проведения полярографического анализа. Конструктивно состоит из источника тока, способного плавно регулировать напряжение в электрохимической цепи и электрохимической ячейки с двумя электродами, одним из которых является ртутный капаящий электрод.

Полярография – метод электрохимического анализа, основанный на измерении зависимости силы диффузионного тока в растворе от приложенного напряжения. Позволяет проводить качественный и количественный анализ.

Полярограмма – график зависимости величины диффузионного тока от приложенного напряжения. В современных приборах предоставляется компьютером в цифровом виде, иногда — самописцем.

Потенциометр – прибор для проведения потенциометрического анализа, состоит из измерительного блока с регулируемым внутренним сопротивлением и стандартом для компенсации разности электродных потенциалов, электрохимической ячейки с двумя электродами (индикаторным и сравнения).

Потенциометрическое титрование – метод электрохимического анализа, основанный на титровании раствора с потен-

циометрической индикацией конечной точки титрования (КТТ).

Потенциометрия, потенциометрический анализ – группа методов электрохимического анализа, основанная на измерении ЭДС системы, состоящей из индикаторного электрода и электрода сравнения при практически нулевых силах тока, протекающих через систему.

Правильность анализа– степень совпадения полученных результатов с истинными значениями.

Предел обнаружения – минимальное количество (обычно в г) вещества, надежно количественно и качественно обнаружимое тем или иным видом детектора.

Предколонка – специальное устройство, устанавливаемое перед хроматографической колонкой в жидкостной хроматографии для того, чтобы обеспечить удаление механических примесей из анализируемого образца, в ряде случаев – сорбировать мешающие анализу компоненты образца.

Проводимость – способность вещества проводить электрический ток за счет имеющихся свободных носителей заряда. Бывает ионной (носители заряда – ионы) и металлической (носители заряда – электроны).

Программирование температуры (temperature programming) – вид газовой хроматографии, при котором температура колонки постепенно поднимается во время хода анализа. Чаще всего температура повышается линейно. Это делает возможным элюирование низкокипящих веществ при низкой температуре, где они могут быть разделены, и элюирование высококипящих веществ при высокой температуре, где их удерживание не является чрезмерно продолжительным.

Прямая потенциометрия – метод электрохимического анализа, основанный на установлении зависимости ЭДС гальванического элемента от концентрации аналита. Производится измерение ЭДС в точке.

Разделение – это операция (процесс), в результате которой компоненты, составляющие исходную смесь, отделяются один от другого.

Разрешение [масс-спектрометра] (resolution) – в масс-спектрометрии безразмерная величина, характеристика масс-спектрометра, показывающая возможность разделять масс-

спектрометрические пики, имеющие близкие массы. Определяется как $R = \Delta m / m$, где R – разрешение, m – номинальная масса ионов, пики которых необходимо разделить, Δm – разница между массами ионов, которые необходимо разделить.

Распределительная хроматография – вид хроматографии, в котором разделение компонент смеси основано на различной растворимости (абсорбции) компонент в подвижной и неподвижной фазах.

Рентгеновское излучение – электромагнитные волны, энергия фотонов которых лежит на шкале электромагнитных волн между ультрафиолетовым излучением и гамма-излучением, что соответствует длинам волн от 10^{-2} до 10^3 Å (от 10^{-12} до 10^{-7} м).

Рефрактометр, рефрактометрический детектор – вид хроматографического детектора, применяемого в ВЭЖХ, основан на измерении показателя преломления проходящей через детектор жидкости.

Светофильтр – оптическое устройство, которое служит для подавления (выделения) части спектра электромагнитного излучения.

Селективность метода - способность метода отличать один аналитический сигнал от другого.

Сечение ионизации – в масс-спектрометрии характеристика вещества, характеризующая его способность ионизоваться в методе электронной ионизации. Приблизительно сечение ионизации молекулы можно определить как сумму сечений ионизации входящих в молекулу атомов.

Силикагель – представляет собой высушенный гель, образующийся из перенасыщенных растворов кремниевых кислот ($n\text{SiO}_2 \cdot m\text{H}_2\text{O}$). Обладает очень развитой поверхностью. Твёрдый гидрофильный сорбент. Активно применяется в хроматографии, особенно с привитыми на поверхность группами той или иной химической природы.

Соосаждение – это распределение микрокомпонента между раствором и осадком.

Сорбция – процесс поглощения газов, паров и растворенных веществ твердыми или жидкими поглотителями на твердом

носителе (сорбентами).

Сорбент – в хроматографии вещество, способное обратимо захватывать на себя молекулы вещества за счет химического или физического взаимодействия. В качестве сорбентов в зависимости от задачи могут выступать самые разные соединения, вещества и их смеси.

Спектр (электромагнитный) – зависимость значений определенной физической характеристики вещества (например, поглощение) от частоты электромагнитного излучения.

Стекланный электрод – электрод со стеклянной мембраной, использующийся для определения концентрации ионов водорода в электрохимическом анализе.

Структурная формула – способ изображения соединения, при котором указаны все атомы, входящие в состав соединения, и связи между ними.

Структурный анализ – анализ, дающий информацию о молекулярном и/или межмолекулярном строении анализируемого объекта.

Сублимация – перевод вещества из твердого состояния в газообразное и последующее осаждение его в твердой форме (минуя жидкую фазу). К разделению возгонкой прибегают, как правило, если разделяемые компоненты трудно плавятся или трудно растворимы

Температура удерживания – в газовой хроматографии температура, при которой выходит максимум хроматографического пика.

Термостат – компонент хроматографа, отвечающий за температурный режим работы хроматографической колонки.

Тонкослойная хроматография (Thin-Layer Chromatography, TLC) – вид хроматографии, при котором разделение веществ ведется на тонких пластинах сорбента.

Титр – способ измерения концентрации раствора, показывающий массу растворённого вещества в 1 мл раствора.

Титрант – реактив точно известной концентрации, добавляемый к раствору исследуемого соединения для взаимодействия с ним, объем титранта при этом фиксируется и строится зависимость «объем добавленного титранта – свойство раствора».

Титратор – автоматическое устройство-дозатор для добав-

ления реактива-титранта к исследуемому раствору. Часто имеет обратную связь с измеряемым прибором для регулировки подачи титранта. Позволяет полностью автоматизировать процесс титрования в электрохимических методах анализа.

Титрование – метод химического анализа, при котором изучается взаимодействие раствора образца с постепенно добавляемым к нему реагентом. Аналитическим сигналом в методе является резкое (скачкообразное) изменение какого-либо свойства раствора, фиксируемого приборами или наблюдателем.

Ультрафиолетовая (УФ, электронная) спектроскопия – раздел оптической спектроскопии, который включает получение, исследование и применение спектров испускания, поглощения и отражения в ультрафиолетовой области. Энергия фотонов ультрафиолетового и видимого диапазонов спектра достаточно высока (1,7—100 эВ или примерно от 10 до 730 нм), чтобы перевести электроны органических молекул из основного состояния в возбужденное — со связывающей на разрыхляющие орбитали. Разность энергий между этими состояниями квантована, поэтому молекулы поглощают фотоны только строго определенной энергии.

Ультрафиолетовое излучение – электромагнитное излучение, занимающее диапазон между фиолетовой границей видимого излучения и рентгеновским излучением (10–380 нм, $7,9 \cdot 10^{14}$ – $3 \cdot 10^{16}$ Гц).

Уравнение Ильковича – в методе полярографии уравнение, связывающее величину предельного диффузионного тока с концентрацией определяемого компонента и его коэффициентом диффузии, при соблюдении постоянства экспериментальных условий – только с концентрацией.

Уравнение Нернста – уравнение, описывающее потенциал электрода в растворе.

Уравнение Фарадея для электролиза – уравнение, связывающее количество выделившегося при электрохимическом процессе на электродах вещества с количеством электричества, прошедшего через систему.

Ферментный электрод – электрод, окислительно-восстановительные процессы на котором катализируются привитыми на поверхность катализаторами биологической природы-

ферментами.

Физико-химические методы анализа – методы основанные на зависимости физических свойств вещества от его природы, причем аналитический сигнал представляет собой величину физического свойства, функционально связанную с концентрацией или массой определяемого компонента.

Флеш-хроматография (флэш-хроматография, flash chromatography) – вид жидкостной хроматографии, применяемой чаще всего в препаративных целях, при котором разделение веществ происходит на набивной колонке, для повышения эффективности разделения создается давление (но не такое высокое, как в методе ВЭЖХ). Конструкции набивных колонок в методе флеш-хроматографии позволяют использовать большие количества сорбента и легко менять как сорбент, так и колонку целиком, что важно для препаративного получения чистых соединений.

Флуоресценция – физический процесс, разновидность люминесценции. Флуоресценцией обычно называют излучательный переход возбужденного состояния с самого нижнего синглетного колебательного уровня S_1 в основное состояние S_0 . В общем случае флуоресценцией называют разрешенный по спине излучательный переход между двумя состояниями одинаковой мультиплетности: между синглетными уровнями $S_1 \rightarrow S_0$ или триплетными $T_1 \rightarrow T_0$. Типичное время жизни такого возбужденного состояния составляет 10^{-11} – 10^{-6} с.

Флуоресцентный детектор – в жидкостной хроматографии детектор, основанный на фиксации флуоресценции растворенных веществ.

Фотометрия пламени – оптический метод количественного элементного анализа по атомным спектрам испускания. Для получения спектров анализируемое вещество переводят в атомный пар в пламени. Термическая пламенная фотометрия - разновидность атомного эмиссионного спектрального анализа. В этом методе анализируемый раствор в виде аэрозоля вводят в пламя горючей смеси воздуха или N_2O с углеводородами (пропаном, бутаном, ацетиленом). При этом растворитель и соли определяемых металлов испаряются и диссоциируют на своб. атомы. Атомы металлов и образовавшиеся в ряде случаев молекулы их оксидов и гидроксидов возбуждаются и излучают световую энергию. Из

всего спектра испускания выделяют характерную для определяемого элемента аналит. линию (с помощью светофильтра или монохроматора) и фотоэлектрически измеряют ее интенсивность, которая служит мерой концентрации данного элемента.

Фрагментные ионы – ионы, возникающие при фрагментации молекул при ионизации в масс-спектрометрическом методе за счет разрыва связей в исходных молекулах.

Химическая ионизация (Chemical Ionization, CI) – вид ионизации в масс-спектрометрии, при котором ионизация молекул образца происходит за счет взаимодействия с предварительно ионизованными молекулами газа-ионизатора (обычно CH_4 , NH_3), за счет потери электрона, захвата протона и т.д.

Хлорсеребряный (хлорид-серебряный) электрод – электрод, представляющий собой серебряную проволоку, покрытую слоем хлорида серебра и опущенную в раствор хлорида калия. В силу простоты конструкции и обслуживания, постоянства показаний - часто используется как электрод сравнения.

Хроматограмма - график зависимости сигнала хроматографического детектора от времени. Обычно он предоставляется компьютером в цифровом виде, иногда — самописцем.

Хроматограф (chromatograph) – прибор для проведения хроматографического анализа или хроматографического разделения веществ. Принципиально состоит из устройства для ввода образца, хроматографической колонки и детектора. Бывают газовые и жидкостные хроматографы.

Хроматография (chromatography) – метод разделения веществ и выделения их в индивидуальном состоянии, основанный на различном распределении веществ между подвижной и неподвижной фазами.

Хроматографическая колонка (chromatography column) – устройство, в котором происходит разделение веществ в колоночной хроматографии. Состоит из корпуса/оболочки и нанесенной внутри неподвижной фазы.

Хроматографический пик (chromatography peak) – графическое отображение аналитического сигнала, полученного на хроматографе. По величине хроматографического пика можно судить о количестве вещества в образце.

Цеолиты – большая группа близких по составу и свойствам

природных минералов, водные алюмосиликаты кальция и натрия из подкласса каркасных силикатов, со стеклянным или перламутровым блеском, известных своей способностью отдавать и вновь поглощать воду в зависимости от температуры и влажности. Другим важным свойством цеолитов является способность к ионному обмену — они способны селективно выделять и вновь впитывать различные вещества, а также обменивать катионы. Используются в жидкостной хроматографии (в основном, в промышленной).

Чувствительность (sensitivity) – характеристика метода анализа, показывающая, какое минимальное количество определяемого вещества может быть надежно обнаружено данным методом. Более точный термин – «предел обнаружения».

Чувствительность метода – минимальная концентрация обнаруживаемого компонента, которую можно достоверно обнаружить с помощью данного метода.

Экстракция – это физико-химический процесс распределения вещества между двумя фазами, чаще всего между двумя несмешивающимися жидкостями.

Электролитическое выделение (электролиз) – метод разделения. Основан на осаждении вещества электрическим током при контролируемом потенциале.

Электрофорез - метод разделения, основанный на различиях в скоростях движения частиц разного заряда, формы и размера в электрическом поле. Скорость движения зависит от заряда, напряженности поля и радиуса частиц. Различают два варианта электрофореза: фронтальный (простой) и зонный (на носителе).

Электрический (электростатический) анализатор - в масс-спектрометрии устройство для разделения ионного пучка по массам за счет разных траекторий частиц с различной массой в электрическом поле. Применяется лишь в составе приборов с другим видом разделения по массе, как дополнительный масс-анализатор.

Электрический ток – направленное упорядоченное движение заряженных (электронов или ионов) частиц.

Электрод (electrode) – устройство, применяемое для в электрохимии для создания электрической цепи, при этом состоит из двух фаз – твердого вещества и раствора, его омывающего.

Электрод сравнения – электрод, потенциал которого по-

стоянен и не зависит от концентрации ионов в исследуемом растворе.

Электродвижущая сила, ЭДС (встречается написание э.д.с.) – совокупность сил неэлектрической природы, создающих разность потенциалов в гальваническом элементе. Измеряется в вольтах, В.

Электродный потенциал – разность электрических потенциалов между электродом и находящимся в контакте с ним электролитом.

Электролиз – процесс разложения растворов или расплавов электролита на электродах под действием протекающего через систему электрического тока.

Электролит – вещество, раствор или расплав которого обладает ионной проводимостью (кислоты, основания, соли).

Электролитическая диссоциация – процесс разложения электролита на ионы в растворе или расплаве. Возникающие при этом катионы и анионы обуславливают наличие ионной проводимости.

Электрохимические методы анализа – методы анализа веществ, основанные на электрохимических явлениях в исследуемой среде или на границах соприкасающихся фаз и связанные с изменением структуры реагирующих частиц, химического состава и концентрации.

Электрон – элементарная частица, имеющая массу примерно $1/1850$ массы протона и несущая элементарный заряд ($-1,6 \cdot 10^{-19}$ Кл). Масса электрона обычно не учитывается в масс-спектральных исследованиях, за исключением масс-спектрометрии высокого разрешения, где ее игнорирование вносит уже большую ошибку в результат определения молекулярной массы.

Электронная ионизация (Electron Ionization, EI) – метод ионизации вещества в масс-спектрометрии, основанный на взаимодействии разогнанного до определенной энергии пучка электронов и паров исследуемого вещества.

Электронно-захватный детектор – вид детекторов в газовой хроматографии, при котором измерению подвергается ток электронов, протекающий сквозь поток газа, проходящего через

детектор. Прохождение через детектор вещества, отличающегося от газа-носителя, вызывает изменение тока за счет захвата электронов молекулами вещества. Ряд детекторов данного вида имеют радиоактивный элемент в своем составе.

Электронный спектр – спектры, обусловленные квантовыми переходами из одного электронного состояния молекулы или атома в другое. Переходы, при которых происходит поглощение кванта электромагнитного излучения, образуют электронные спектры поглощения. Переходы, сопровождающиеся испусканием излучения, образуют электронные спектры испускания (эмиссии). Электронные спектры расположены, как правило, в видимой и УФ областях спектра.

Эмиссия – испускание, выделение атомом или молекулой кванта света.

ЛИТЕРАТУРА

1. Александрова, Л.Н. Лабораторно-практические занятия по почвоведению / Л.Н. Александрова, О.А. Найденова. – Л.: Агропромиздат, 1986. – 295 с.
2. Аринушкина, Е.В. Руководство по химическому анализу почв / Е.В. Аринушкина. – М.: Изд-во Моск. ун-та, 1961. – 490 с.
3. Ильин, Д.Ю. Методы экологических исследований: учебное пособие / Д.Ю. Ильин, Г.В. Ильина, С.А. Сашенкова. – Пенза: РИО ПГСХА, 2016. – 152 с.: ил.
4. Лебухов, В.И. Физико-химические методы исследования: учебник / В.И. Лебухов, А.И. Окара, Л.П. Павлюченкова / под ред. А.И. Окара. – Спб.: Изд-во «Лань», 2012. – 480 с.: ил.
5. Методы экологических исследований: методическое пособие / Т.А. Власова, Е.В. Надежкина, Е.Н. Кузин и др. – Пенза: ВЦ ПГСХА, 2000. – 229 с.
6. Практикум по почвоведению / под ред. И.С. Кауричева. – 4-е изд., перераб. доп. – М.: Агропромиздат, 1986. – 336 с.
7. Практикум по агрохимии: учебное пособие / В.Г. Минеев, В.Г. Сычев, О.А. Амелянчик и др. / под ред. Академика РАСХН В.Г. Минеева. – 2-е изд., перераб. и доп М.: Изд-во МГУ, 2001. – 689 с.
8. Фомин, Н.А. Общее почвоведение: учебное пособие / Н.А. Фомин, Н.П. Чекаев, А.Н. Арефьев, А.Ю. Кузнецов. – Пенза: РИО ПГСХА, 2014. – 219 с.
9. Чекаев, Н.П. Физико-химические свойства почвы: методические указания / Н.П. Чекаев, Е.Н. Кузин. – Пенза: РИО ПГСХА, 2008. – 63 с.
10. Чекаев, Н.П. Физико-химические свойства почв: учебное пособие / Н.П. Чекаев, Е.Н. Кузин, А.Н. Арефьев. – Пенза: РИО ПГСХА, 2008. – 173 с.
11. Ягодин, Б.А. Агрохимия / Б.А. Ягодин, Ю.П. Жуков, В.И. Кобзаренко / Под ред. Б.А. Ягодина. – М.: Колос, 2002. – 584 с.

Николай Петрович Чекаев
Василий Николаевич Эркаев

Инструментальные методы исследований

Учебное пособие
для студентов, обучающихся
по направлениям 35.04.03 Агрохимия и агропочвоведение
и 35.04.04 Агрономия
(уровень магистратуры)

Редактор Н.П. Чекаев
Компьютерный набор Н.П. Чекаева
Корректор Л.А. Артамонова

Подписано в печать

Бумага ГознакPrint

Усл. печ. л. 11,4

Формат 60×84 1/16

Отпечатано на ризографе

Заказ №

РИО ПГСХА

440014, г. Пенза, ул. Ботаническая, 30