

## Лабораторная работа

# ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ОБЩЕГО АЗОТА В РАСТЕНИЯХ ПО ГИНЗБУРГ В МОДИФИКАЦИИ МЕЩЕРЯКОВА КОЛОРИМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

**Цель занятия:** определить содержание общего азота в растениях по Гинзбург в модификации Мещерякова колориметрическим методом и установить по результатам анализа необходимость проведения подкормок азотными удобрениями. Изучить принцип и порядок работы анализатора белка по Кьельдалю UDK 129.

**Недостаток азота.** У всех растений - однолетних, двулетних, многолетних - при недостатке азота замедляется рост стеблей, ветвей и корней. Пожелтение листьев (прежде всего нижних) из-за распада хлорофилла сменяется побурением, и листья засыхают. Заболевание распространяется на листья следующего яруса.

Общие признаки для всех растений такие: одревеснение стеблей, острый угол расположения листа к стеблю, задержка роста, уменьшение цветков и их быстрый опад, малое число ненормально развитых и окрашенных плодов. Весь цикл вегетации и созревания ускорен (рисунок 2).

Соцветия *злаков* укорочены из-за раннего отмирания меристемы: колосья и початки укорочены сверху, а метелки снизу. Плохая озерненность. Зерна щуплые. Растение небольшое, стебель тонкий, жесткий, листья узкие, прижатые к стеблю. Стебли снизу могут иметь пурпуровый оттенок.

Характерное пожелтение нижних листьев *кукурузы* начинается с верхнего кончика листа и продолжается вдоль главной жилки, причем края листа некоторое время остаются зелеными. Початки искривленные.

У *хлопчатника* при недостатке азота задерживаются рост, ветвление, образование плодоземелентов. Листья, начиная с нижних ярусов, желто-бурые, потом отмирают и опадают.

*Лен* имеет одревесневшие тонкие стебли с мелкими листьями, нижние листья желтые, затем становятся бурыми и отмирают.

У *картофеля* дефицит азота проявляется острее недостатков других элементов. Резко задерживается рост: нижние листья сначала светло-зеленые, затем желто-зеленые, края закручены внутрь (чашеобразный лист); клубни мелкие.

Для *капусты белокочанной* и *цветной* недостаток азота характерен розово-желтыми нижними листьями, медленным ростом растений.

Общий габитус растений *огурца* и *томата* - веретенообразный; стебли тонкие, жесткие; листья, начиная с нижних, желто-зеленые, желто-бурые; цветки мелкие, многие опадают. Плоды огурца светло-зеленые, искривленные, к концу заостренные, их кончик загнут. У томатов на обратной стороне желтых нижних листьев появляется антоциановая окраска. Рост задержан. Стебли постепенно краснеют.



**Недостаток азота у растений томата**

**Недостаток азота у растений озимой пшеницы**

**Недостаток азота у растений капусты**

**Недостаток азота у растений земляники**

**Рисунок 2 – Недостаток азота у растений**

*Лук* на недостаток азота реагирует рано. Растение медленно растет, листья мелкие, светло-зеленые, позднее буро-серые.

*Редис* при дефиците азота отличается мелкими желто-зелеными листьями и небольшим корнеплодом.

Из *плодовых* культур резче всех на недостаток азота реагирует персик. У него появляются признаки азотного голодания даже при задержании почвы и плохой ее обработке. У всех плодовых первые признаки недостатка азота проявляются в пожелтении листьев у основания побегов, в задержке прироста побегов. Листья расположены под острым углом к ветви. Листопад наступает рано. Резко изменяется число цветков и плодов. Побеги коричнево-красные. Плоды мелкие, ярко окрашены.

У *земляники* недостаток азота вызывает слабое образование усов, покраснение и раннее пожелтение листьев.

**Значение метода.** Азотистые вещества, содержащиеся в растениях, представлены преимущественно белком. Кроме того, азот входит в состав нуклеиновых кислот, хлорофилла, алкалоидов и фосфатидов. Количество небелкового азота в растениях обычно не превышает 10% от общего содержания азотистых веществ.

Растительный белок представляет большую пищевую и кормовую ценность. Поэтому определение белкового азота в растениях имеет большое значение. При агрохимических анализах растений чаще всего проводят определение общего азота с целью определения потребления азота урожаем культуры в течение вегетационного периода и определения качества продукции.

**Принцип метода.** При взаимодействии солей аммония с реактивом Несслера образуется комплексная соль желтого цвета. Интенсивность окраски раствора пропорциональна концентрации аммония и может быть измерена колориметрически. Реактив Несслера - щелочной раствор йодистой

ртутнокалиевой соли образует с аммонийными солями в сильнощелочной среде йодистый меркураммоний.



**Ход анализа.** 2 мл раствора переносят в мерную колбу емкостью 50 мл. Для нейтрализации избытка  $H_2SO_4$  в эту колбу добавляют 2 мл 2,5%-ного NaOH (KOH). Приливают 2 мл 50%-ного раствора сегнетовой соли.

Наливают в колбу дистиллированной воды до 45 мл, взбалтывают, добавляют 2 мл реактива Несслера, доливают водой до метки, перемешивают и колориметрируют.

Одновременно готовят образцовые растворы для построения калибровочной кривой. Образцовый раствор сернокислого аммония, содержащий 0,005 мг  $NH_4$  в 1 мл, готовят путем растворения химически чистой соли (в мерной колбе емкостью 1 л) в воде без аммиака. Для колориметрирования приливают в мерные колбы емкостью 50 мл: 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 мл образцового раствора. Дальнейшая подготовка к колориметрированию такая же, как и испытуемых.

Сначала колориметрируют, образцовые растворы и по полученным данным вычерчивают калибровочную кривую. Для чего на оси абсцисс откладывают значение концентрации - мг азота, а на оси ординат - соответствующие отсчеты шкалы прибора (мА). Через 2-3 минуты колориметрируют сначала образцовые растворы, а потом испытуемые. Колориметрирование проводят на спектрофотометре, что позволяет определить оптическую плотность раствора через синий светофильтр при  $\lambda=440$  нм.

По точкам, полученным при пересечении показаний шкалы прибора и концентраций образцовых растворов, строят калибровочную кривую, по которой определяют концентрацию исследуемого раствора.

По точкам, полученным при пересечении показаний шкалы прибора и концентраций образцовых растворов, строят калибровочную кривую, по которой определяют концентрацию исследуемого раствора.

Результаты вычисляют по формуле:

$$N = \frac{a * 100 * 100}{0,2 * 2 * 1000} = a * 25 = a * 0,0125$$

где а - концентрация азота по графику.

Для получения зерна сильной пшеницы предложены определенные уровни содержания общего азота в листьях в разные фазы развития как показатели потребности озимой пшеницы в поздней азотной подкормке и установлены соответствующие дозы азотных удобрений (таблица 1).

Форма записи:

Вариант опыта	№ колбы	Отсчет по спектрофотометру	Концентрация N, % по графику	Концентрация N, %
1				
2				

Установить дозы азота для подкормок озимой пшеницы в условиях черноземных почв можно, используя результаты анализов: для ранней весенней подкормки анализируют растения в фазе осеннего кущения, для летней – листья в фазе цветения (таблица 2).

**Таблица 1 – Уровни обеспеченности озимой пшеницы азотом по фазам развития и потребность в поздней азотной подкормке для получения сильной пшеницы (по данным ФГБОУ «НЦЗ им. П.П. Лукьяненко»)**

Содержание азота в листьях, % сухого вещества			Обеспеченность растений азотом	Потребность в подкормке	Доза азота кг/га
колошение -начало цветения	полное цветение	конец цветения начало формирования зерна			
<3,0	<2,5	<2,0	низкая	очень сильная	60-80
3,1-3,5	2,6-3,0	2,1-2,5	средняя	сильная	40-60
3,6-4,0	3,1-3,5	2,6-3,0	оптимальная	средняя	30-40
>4,0	>3,5	>3,0	выше оптимальной	слабая или отсутствует	20-30

**Таблица 2 – Содержание общего азота в растениях озимой пшеницы и доза азота для подкормки (по В.И. Никитишену)**

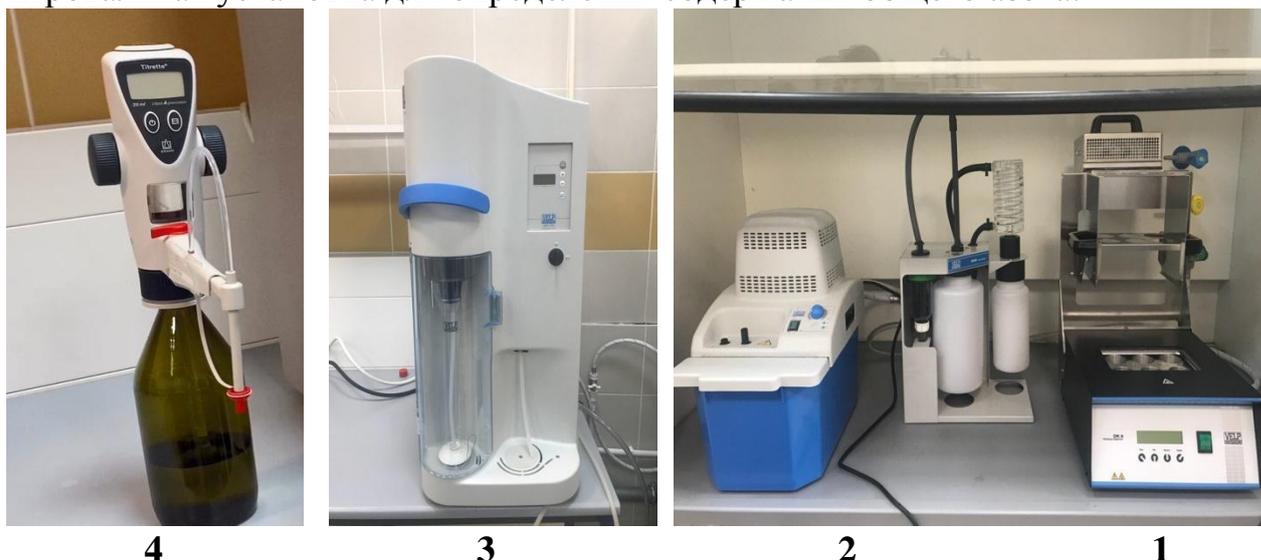
Общий азот в растениях осенью, % сухого вещества	Доза азота в раннюю весеннюю подкормку, кг/га	Общий азот в листьях в фазе цветения, % сухого вещества	Доза азота в летнюю подкормку, кг/га
3,0-3,4	80	2,1-2,4	60
3,5-3,8	60	2,5-2,7	50
3,9-4,2	45	2,8-3,0	40
4,3-4,6	30	3,1-3,3	30
4,7-5,0	20	3,4-3,6	20

Внесение указанных в таблице 2 доз азота при условии увлажнения почвы и применения до посева других удобрений рассчитано на получение 5,4-5,6 т зерна озимой пшеницы с га.

### **Принцип и порядок работы анализатора белка по Кьельдалю UDK 129**

Анализатор белка по Кьельдалю UDK 129 (рисунок 3) состоит из следующих основных блоков: дигесторы, система для удаления и нейтрализации паров сжигания, установка для перегонки с паром и

титровальная установка для определения содержания общего азота.



**Рисунок 3 - Анализатор белка по Кьельдалю UDK 129**

1. Дигесторы (термореакторы) предназначены для мокрого сжигания жидких и твердых образцов. Температуру сжигания можно выбирать в диапазоне от комнатной температуры до  $450^{\circ}\text{C}$  (1).

2. Система для удаления и нейтрализации паров сжигания. Нейтрализация паров является одним из необходимых условий для комфортной работы лаборатории, так как при сжигании образуются пары кислот, которые при отсутствии нейтрализации пагубно влияют на организм человека, а также подвергают оборудование быстрому износу (2).

3. Установка для перегонки с паром. Перегонку с паром используют в лаборатории для разделения нерастворимых в воде жидкостей и твердых веществ в соответствии с законом Дальтона о парциальном давлении в газовой смеси. Ее так же используют для отгонки химических веществ из смесей или растворов после сдвига ионного равновесия добавлением кислот или оснований, как в хорошо известном методе Кьельдаля для определения содержания общего азота (3).

4. Титровальная установка. Точность титрования соответствует классу А. Шаг титрования составляет 10 мкл (для титратора номинальным объемом 25 мл) (4).