

УДК 543.42.062:546.72:631.445

МЕТОДИКА ЭКСПРЕССНОГО СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЖЕЛЕЗА В ДИТИОНИТНЫХ ВЫТЯЖКАХ ИЗ ПОЧВ

© 2024 г. Н. Н. Данченко^{1,*}, Е. В. Цомаева¹, Д. А. Жулидова²,
Ш. А. Хаматнуров¹, З. С. Артемьева¹

¹Федеральный исследовательский центр “Почвенный институт им. В.В. Докучаева”
119017 Москва, Пыжевский пер., 7, стр. 2, Россия

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, факультет почвоведения
119991, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 12, Россия

*E-mail: nataly_danch@mail.ru

Разработана и оптимизирована методика определения дитионитного железа для навесок почв и фракций порядка 20–25 мг со спектрофотометрическим окончанием. В отличие от ранее описанных методик в качестве хромогена использован фенантролин, что позволило упростить анализ, исключив стадию сжигания. Оптимизирована процедура обработки образцов цитрат-бикарбонат-дитионитным экстрагентом. Исследована повторяемость и внутрилабораторная воспроизводимость методики. Верификация предложенной методики путем сравнения со стандартной показала хорошую сходимость результатов.

Ключевые слова: дитионитное Fe, методика определения, спектрофотометрическая детекция, фенантролин.

DOI: 10.31857/S0002188124050104, **EDN:** CYKTLK

ВВЕДЕНИЕ

Железо является четвертым по распространенности (после O, Si и Al) элементом в литосфере и многих почвах и играет важную роль в процессах почвообразования [1, 2, 3]. Оно способствует стабилизации органического вещества (**ОВ**) в почве через различные механизмы: 1 – сорбцию **ОВ** активной поверхностью аморфных и слабо окристаллизованных оксигидроксидов, 2 – образование устойчивых комплексов ионов Fe с гуминовыми веществами почв, 3 – катализ окисления органических остатков ионами Fe (реакция Фентона) и др. [4, 5]. Железо также вносит существенный вклад в микроагрегацию почв, т.к. его оксигидроксиды являются одним из важных строительных блоков при формировании агрегатов, а ионные формы – цементирующим агентом [6]. В то же время его присутствие в кристаллической структуре способствует выветриванию первичных минералов [3]. В связи с этим при решении многих исследовательских задач возникает необходимость определения содержания разных форм Fe в почве. Основное значение для всех перечисленных процессов имеют несиликатные формы железа, содержание которых в почве и грунтах обычно оценивают по цитрат-бикарбонат-дитионитной (**ЦБД**) вытяжке по Мера–Джексону [7]. И хотя разделение

между плохо окристаллизованными и кристаллическими фракциями оксидов Fe зависит от многих факторов и не является абсолютным при использовании любых реактивов [8, 9], данный метод наиболее широко принят в мировой практике почвенного анализа [8, 10–12].

Метод основан на растворении оксигидроксидов железа путем восстановления Fe (III) до Fe (II), соединения которого гораздо более растворимы, и создании условий для удержания ионов железа в растворе за счет образования цитратных комплексов. Обычной аналитической практикой в настоящий момент является определение концентрации Fe в полученных вытяжках методом атомно-абсорбционной спектроскопии [12], однако довольно часто возникает необходимость использования более дешевого и портативного метода, такого как спектрофотометрия (**СФ**).

Ранее в работе [13] была разработана методика для анализа навесок порядка 10–20 мг, где концентрация Fe определяется **СФ**-методом с роданидом калия. Роданид-ионы образуют прочные окрашенные комплексы с Fe(III), поэтому перед анализом необходимо удалять дитионит и окислять восстановленное Fe(II) обратно до трехвалентного состояния. Это достигается обработкой вытяжек пероксидом водорода при нагревании, либо сжиганием

в тиглях при добавлении концентрированных серной и азотной кислот, что значительно удлиняет время анализа. Та же проблема возникает при использовании в качестве реагента сульфосалициловой кислоты [12, 14, 15]. Однако существует и широко используется для СФ-определения железа в водных растворах реагент, который образует устойчивые комплексы именно с Fe(II) — 1,10-фенантролин (далее — фенантролин). Он количественно реагирует с двухвалентным железом в широком интервале pH от 2.0 до 9.0, образуя оранжево-красный комплекс $(C_{12}H_8N_2)_3Fe^{2+}$ — ферроин [15]. Благодаря высокому коэффициенту экстинкции комплекса метод является высокочувствительным. Реактив нечувствителен к присутствию дитионита, фосфатов, хлоридов, сульфатов. Ацетаты, цитраты и тартраты также не влияют на определение, т.к. устойчивость фенантролиновых комплексов Fe на несколько порядков больше, чем с этими органическими ионами [15]. Fe(III) также взаимодействует с фенантролином, образуя окрашенные комплексы, но чувствительность этого варианта гораздо меньше, и он используется для определения только сравнительно высоких концентраций железа [15]. В почвенной практике данный реагент рекомендован для определения закисного Fe и его подвижных форм в кислотных вытяжках [10, 16].

Цель работы — разработка и оптимизация методики СФ-определения железа в ЦБД-вытяжке с использованием комплексобразования с *o*-фенантролином для анализа микронавесок почвы массой порядка 20–25 мг. Исследование применимости и ограничений ЦБД-вытяжки, как метода оценки содержания несиликатного или свободного Fe, не входило в задачи настоящей работы, т.к. этот аспект неоднократно освещался в литературе [9, 17].

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Образцы почв. Для отработки методики использовали образец дерново-подзолистой почвы, отобранный на делянке Учебно-опытного почвенно-экологического центра МГУ им. М.В. Ломоносова “Чашниково”. Для этого образца было предварительно определено содержание дитионитного Fe по стандартной методике [12] с атомно-абсорбционным окончанием. Оно составило $1.21 \pm 0.05\%$. Для верификации методики использовали стандартные образцы курского чернозема, московской дерново-подзолистой и прикаспийской светло-каштановой почв (СП1, СП2 и СП3, №№ 901-76, 902-76, 903-76 соответственно по Госреестру мер и измерительных приборов), отличавшихся высокой степенью гомогенности и стандартизированные по содержанию органического углерода [18].

Реактивы. Цитрат, гидрокарбонат и дитионит Na, а также фенантролин квалификации не ниже ч.д.а. использовали без дополнительной очистки. Дитионит натрия для предотвращения его окисления на свету хранили в склянке темного стекла и заменяли не реже 1-го раза в полгода. Для приготовления калибровочных растворов использовали ГСО ионов железа (III) 1 г/л, фон — 1М азотная кислота (ГСО 7835–2000).

Для приготовления рабочих водных растворов: 0.3 М цитрата Na, 1М бикарбоната Na и 0.1%-ного фенантролина брали навески сухих реактивов на аналитических весах и растворяли в дистиллированной воде. Рабочий раствор 0.1%-ного фенантролина хранили в темноте. Рабочий стандартный раствор ионов Fe 0.01 г/л готовили, разбавляя 1 мл аликвоту ГСО 1 г/л дистиллированной водой в 100 мл мерной колбе, и подкисляли 1 каплей 1 М HCl.

Оборудование. Исследование проведено с привлечением оборудования Центра коллективного пользования Почвенного института им. В.В. Докучаева. Атомно-абсорбционное определение Fe проводили на спектрофотометре Agilent AA-240 (США). Для измерения оптической плотности растворов фенантролиновых комплексов Fe использовали микропроцессорный фотоколориметр “ЭКОТЕСТ 2020-РС”, ЭКОНИКС, Россия, который можно использовать как стационарно, так и в полевых условиях. Измерения проводили при 502 нм.

Приготовление ЦБД-вытяжек по Мера–Джексону. В пластиковые центрифужные пробирки емкостью 10–15 мл (с крышкой) помещали навески образцов 20–25 мг, добавляли 4 мл 0.3 М цитрата Na и 0.5 мл 1 М бикарбоната Na, перемешивали, помещали пробирки на водяную баню с температурой 80°C, оборудованную держателем для пробирок, и нагревали 4–5 мин, чтобы содержимое нагрелось до 80°C. В нагретые пробирки добавляли маркированной ложкой 80–100 мг порошка дитионита натрия, взбалтывали и оставляли нагреваться с открытой крышкой в течение 15 мин. После этого вынимали пробирки из бани, закрывали пробками и тщательно встряхивали, затем помещали на ротатор, перемешивали 10 мин и оставляли до утра. Утром пробирки еще раз встряхивали на ротаторе 10 мин. Затем переносили пробирки в штатив на стол, добавляли 0.5 мл насыщенного раствора NaCl и центрифугировали 5 мин при 3000 об./мин. Затем сливали супернатант в мерные колбы или пробирки на 50 мл. К осадку в пробирках добавляли новую порцию экстрагента и повторяли весь процесс еще 2 раза, уже не оставляя на ночь. Супернатант сливали в те же мерные колбы (или пробирки) и доводили растворы до метки дистиллированной водой.

СФ-определение Fe с фенантролином. Для построения градуировочной кривой готовили калибровочные растворы, содержащие реактивы, используемые для

вытяжек по Мера–Джексону, в тех же количествах, что и анализируемые пробы. В мерные колбы на 50 мл вносили небольшое количество дистиллированной воды и рабочий стандартный раствор ионов Fe в соответствии с табл. 1:

№ раствора	1	2	3	4	5	6
Объем рабочего стандартного раствора ионов Fe (0.01 г/л), мл	0	1	2.5	3.5	5	7
Концентрация ионов Fe в калибровочном растворе, мг/л	0	0.2	0.5	0.7	1	1.5

Добавляли в колбы 2.4 мл раствора цитрата натрия, 0.3 мл раствора NaHCO_3 , приблизительно 50 мг дитионита Na, тщательно перемешивали, вращая колбу. Затем добавляли 1 мл раствора фенантролина, доводили до метки, давали постоять не менее 1.5 ч и фотометрировали при $\lambda = 502$ нм.

Для подготовки к фотометрическому анализу полученных экстрактов необходимо было отобрать аликвоту 10 мл и перенести в чистые мерные пробирки на 50 мл. Затем добавить в каждую пробирку по 1 мл раствора фенантролина, довести до метки и дать постоять 15 мин перед фотометрированием.

Обработка данных. Для обработки результатов измерений использовали статистический пакет Microsoft Excel 2010, выбранный уровень значимости $p = 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Оптимизация условий проведения ЦБД-вытяжки для анализа микропроб почв и почвенных фракций. На первом этапе до подбора условий СФ-определения Fe провели оптимизацию условий проведения ЦБД-вытяжки для микронавесок, взяв за основу методику [13].

Подготовка образцов почвы перед экстракцией. В исходной методике для более полного взаимодействия экстрагента с поверхностью частиц предусмотрено ультразвуковое диспергирование. Авторы отмечали увеличение растворимости соединений Al, Fe и Si при озвучивании. Однако не совсем корректно сравнивать результаты, полученные таким способом, с полученными традиционным вариантом для 1–5 г проб почв, где пробы измельчают и пропускают через сито 0.25 мм. Кроме того, следует отметить, что сами реактивы дитионитного метода, являясь солями натрия, обладают выраженной диспергирующей способностью [19]. В связи с этим для упрощения процедуры и стандартизации условий стадия ультразвукового диспергирования образца была заменена гомогенизацией путем растирания и пропускания через сито 0.05 мм.

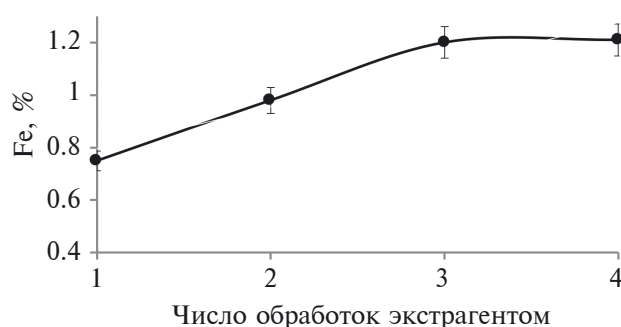


Рис. 1. Зависимость результата определения Fe в ЦБД-вытяжке от количества обработок образца почвы.

Время и кратность обработки пробы ЦБД-смесью. С использованием в качестве аналитического окончания ААС-метода было исследовано влияние на экстракцию Fe и воспроизводимость результатов времени и кратности обработки пробы почвы ЦБД-смесью, а также объема и кратности добавления раствора NaCl (как коагулянта коллоидов, мешающих СФ-определению). В первоначальном варианте методики [7] предлагали проводить однократную обработку всех образцов, за исключением тех, содержание экстрагируемого Fe_2O_3 в которых превышало 5%. Для последних рекомендовали 2–3-кратную обработку. Аналогичная рекомендация дана и в методике [13]. Исследование зависимости определяемой концентрации железа от кратности обработки ДЦБЭкстрагентом показало, что 3-кратной обработки достаточно для достижения стабильного результата. Дальнейшее увеличение числа обработок не вело к заметному росту результата. При такой кратности наблюдали наилучшую повторяемость и воспроизводимость данных при анализе по предлагаемому нами варианту методики для малых навесок (рис. 1).

Объем и кратность добавления раствора NaCl. В исходной методике [7] объем добавляемого NaCl составляет $\frac{1}{4}$ от объема цитрата, в методике [13] — $\frac{1}{2}$. Чтобы подобрать оптимальную добавку раствора NaCl мы исследовали зависимость количества экстрагируемого Fe от добавленного объема NaCl при 3-кратной экстракции (табл. 1).

Показано, что увеличение объема добавки NaCl с 0.5 до 2.0 мл не ло на результат определения Fe. Поэтому в дальнейшем мы использовали минимальный объем добавки 0.5 мл.

В методике [7] рекомендуется добавлять раствор NaCl к каждой порции перед отделением экстракта от осадка, а в [13] — промывать порцией раствора NaCl осадок после 2-го центрифугирования. В использованных для предварительной отработки методики образцах почвы наблюдали пептизацию

Таблица 1. Влияние объема добавки насыщенного раствора NaCl на результаты определения железа

Объем добавки NaCl, мл	0.5	1.0	2.0
Содержание Fe, % (стандартное отклонение)	1.22 (0.05)	1.19 (0.06)	1.21 (0.05)

коллоидов при отделении раствора от осадка после центрифугирования уже первой порции экстракта. В связи с этим мы рекомендуем добавлять раствор NaCl к каждой порции экстракта перед центрифугированием. Количество извлекаемого в таком варианте Fe по сравнению с однократной добавкой NaCl для использованной дерново-подзолистой почвы увеличилось с 0.98 ± 0.03 до $1.22 \pm 0.06\%$.

Подбор условий СФ-определения Fe. Проверка на отсутствие мешающего влияния почвенного ОВ.

Мы предположили, что присутствие почвенного органического вещества (ОВ) не должно мешать определению Fe с фенантролином, т.к. максимум поглощения ферроина лежит в длинноволновой области >500 нм, где природное ОВ поглощает очень слабо. Чтобы подтвердить данное предположение, провели параллельное определение Fe в том же образце почвы, предварительно обработанном пероксидом водорода при нагревании. Результат определения значимо не отличался от полученного без обработки H_2O_2 : $1.18 \pm 0.05\%$. Следовательно, присутствие почвенного ОВ не мешает определению Fe предлагаемым методом.

Исследование влияния времени экспозиции с реактивами на оптическую плотность калибровочных растворов. В ГОСТ 27395–87 рекомендуется фотометрировать растворы уже через 10 мин после добавления раствора фенантролина и восстановителя, однако авторами работы [20] было показано, что окраска ферроина развивается не мгновенно после добавления реактивов к раствору, содержащему Fe(III), а требует порядка 2 ч, особенно для концентраций >1.0 мг/л. Соблюдение закона

Бугера–Ламберта–Бера (линейность зависимости оптической плотности от концентрации раствора) наблюдается только после этого времени. В связи с этим мы исследовали скорость развития окраски ферроина в калибровочных растворах, содержащих реактивы дитионитной вытяжки (рис. 2).

Показано, в изученной системе устойчивая окраска развивалась в течение 1.5 ч. Дальнейшее увеличение времени экспозиции не приводило к росту оптической плотности растворов в исследованном диапазоне концентраций Fe.

В экспериментальных ЦБД-вытяжках окраска развивалась почти моментально после добавления фенантролина, это было связано с тем, что железо в этих образцах уже переведено в двухвалентную форму и не требуется времени на реакции восстановления.

Исследование диапазона линейности градуировочной кривой. Показано (рис. 3), что зависимость оптической плотности от концентрации носила линейный характер в достаточно узком диапазоне: от 0 до 1.5 мг/л. Для повышения надежности получаемых результатов в дальнейшем для калибровки и измерений использовали только этот диапазон.

В качестве достоинства данной методики следует отметить высокую временную стабильность калибровочных растворов: при хранении между измерениями в холодильнике (4°C) их оптическая плотность оставалась постоянной в течение 2 мес.

Оценка воспроизводимости результатов определения Fe по предложенной методике. Для оценки прецизионности методики проводили определение Fe

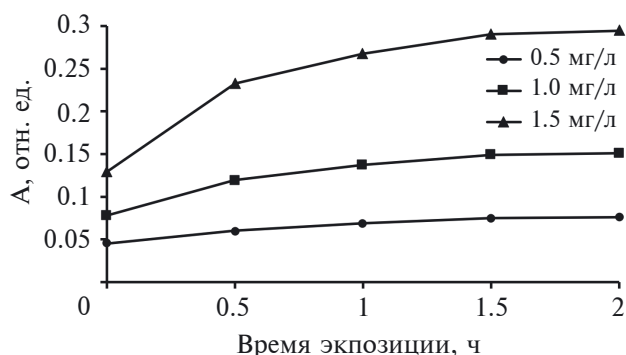


Рис. 2. Зависимость оптической плотности A от времени экспозиции с фенантролином для калибровочных растворов с разной концентрацией Fe.

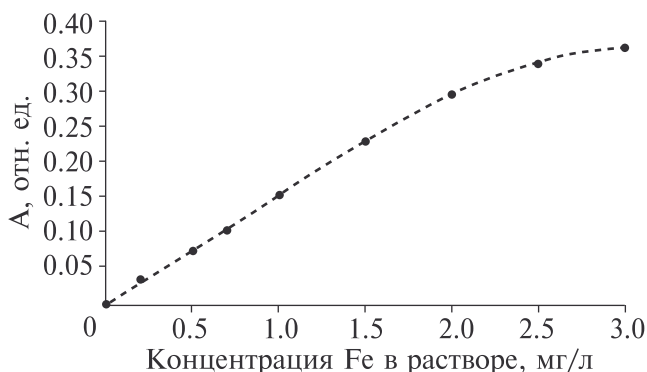


Рис. 3. Градуировочная зависимость оптической плотности (A) раствора фенантролината железа от концентрации Fe(II) в стандартном растворе в присутствии реактивов ЦБД-вытяжки.

Таблица 2. Оценка повторяемости и воспроизводимости результатов определения дитионитного Fe в стандартных образцах почвы по предложенной методике

Образец	День анализа	Результаты единичных определений содержания Fe в образце, %			Среднее	СКО*	
		I	II	III		s_r^{**}	s_R^{***}
СП1	1	1.025	1.033	1.016	1.025	0.008	0.05
	2	0.923	0.965	0.98	0.956	0.030	
	3	1.022	0.947	0.963	0.977	0.039	
СП2	1	0.853	0.784	0.88	0.839	0.05	0.05
	2	0.867	0.824	0.846	0.846	0.02	
	3	0.822	0.853	0.815	0.83	0.02	

* Среднеквадратичное отклонение.

** В условиях повторяемости.

*** В условиях воспроизводимости.

Таблица 3. Сравнение результатов определения дитионитного Fe в стандартных образцах почвы по предложенной и стандартной методикам [12]

Образец	Средняя величина содержания Fe, % $\pm$ СКО*	
	предложенная методика	стандартная методика
СП1	1.02 $\pm$ 0.02	1.02 $\pm$ 0.01
СП2	0.82 $\pm$ 0.03	0.85 $\pm$ 0.03
СП3	0.81 $\pm$ 0.04	0.80 $\pm$ 0.04

* Для 3-х аналитических повторностей.

в 2-х стандартных образцах почвы СП1 и СП2 в 3 разных дня в течение 1-го мес. двумя операторами, каждый раз в 3-х аналитических повторностях, что обеспечило условия повторяемости и воспроизводимости в соответствии с МИ 2336–2002 [21]. Результаты этой оценки отражены в табл. 2.

Показано, что среднеквадратичное отклонение как в условиях повторяемости (параллельные измерения), так и в условиях воспроизводимости, не превысило 4% от измеряемой величины.

Верификация методики сравнением со стандартной методикой. Для верификации методики провели определение дитионитного Fe в стандартных образцах почв СП1, СП2 и СП3 по предложенной методике и по стандартной методике с атомно-абсорбционным окончанием [12] с навесками порядка 1.0 г (табл. 3).

Сравнение показало хорошую сходимость результатов, полученных согласно предложенной методике со спектрофотометрическим окончанием и полученных по стандартной методике с атомно-абсорбционным окончанием.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, предложенная методика может быть использована для определения дитионитного

железа при недоступности атомно-абсорбционного метода, для удешевления массовых анализов и для малых навесок почв и почвенных фракций.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Зонн С.В. Железо в почвах. М.: Наука, 1982. 208 с.
2. Орлов Д.С. Химия почв. М.: Изд-во МГУ, 1992. 400 с.
3. Sposito G. The Chemistry of soils. 3rd Ed. Oxford University Press, 2016. 272 p.
4. von Lützow M., Kögel-Knabner I., Ekschmitt K., Flessa H., Guggenberger G., Matzner E., Marschner B. Stabilization of organic matter in temperate soils: mechanisms and their relevance under different soil conditions – a review // Eur. J. Soil Sci. 2006. V. 57. P. 426–445.
5. Santos A., Firaka D.S., Melo V.F., Ribeiro R.R., Peralta-Zamora P. Understanding the nature of Fenton processes in soil matrices: The role of iron forms and organic matter // Sci. Total Environ. 2021. V. 796. 148804. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148804>
6. Totsche K., Amelung W., Gerzabek M., Guggenberger G., Klumpp E., Knief C. Microaggregates in soils // J. Plant Nutr. Soil Sci. 2018. V. 181. P. 104–136.
7. Mehra O.P., Jackson M.L. Iron oxide removal from soils and clays by a dithionite-citrate system buffered

- with sodium bicarbonate // *Clays and Clay Miner.* 1960. V. 7. P. 317–327.
8. *Shang Ch., Zelazny L.W.* Selective dissolution techniques for mineral analysis of soils and sediments // *Methods of Soil Analyses* / Eds. A.L. Ulery, L.R. Drees. P. 5 – Mineralogical method. Ch. 3. Soil Science Society of America, 2008.
 9. *Водяницкий Ю.Н., Шоба С.А.* Дискуссионные вопросы интерпретации результатов химической экстракции соединений железа из почв // *Почвоведение.* 2014. № 6. С. 697–704.
 10. *Аринушкина Е.В.* Руководство по химическому анализу почв. М.: Изд-во МГУ, 1970. 488 с.
 11. *Courchesne F., Turmel M.-C.* Extractable Al, Fe, Mn, and Si // *Soil Sampling and Methods of Analysis* / Eds. M.R. Carter, E.G. Gregorich. 2nd ed. Canadian Society of Soil Science, CRC Press and Taylor & Francis Group. Oxford, UK, 2008.
 12. Теория и практика химического анализа почв / Под ред. Воробьевой Л.А. М.: ГЕОС, 2006. 400 с.
 13. *Шаймухаметов М.Ш., Травникова Л.С., Березина Н.В.* Методы определения Al, Fe и Si в вытяжках из малых навесок почв // *Почвоведение.* 1981. № 11. С. 143–150.
 14. *Лурье Ю.Ю.* Справочник по аналитической химии. М.: Химия, 1971. 456 с.
 15. *Пешкова В.М., Громова М.И.* Методы абсорбционной спектроскопии в аналитической химии. М.: Высш. шк., 1976. С. 155–156.
 16. ГОСТ 27395-87. ПОЧВЫ. Метод определения подвижных соединений двух- и трехвалентного железа по Веригиной–Аринушкиной. Введен 01.07.1988.
 17. *Бабанин В.Ф., Бойченко В.О., Минеева Н.С., Филатов А.В.* Изучение различных форм соединений железа и их роль в процессе почвообразования // *Изв. вуз. Хим. и хим. технол.* 2017. Т. 60. Вып. 7. С. 91–96.
 18. *Козут Б.М., Фрид А.С.* Сравнительная оценка методов определения содержания гумуса в почвах // *Почвоведение.* 1993. № 9. С. 118–122.
 19. *Wintermyer A.M., Kinter E.B.* Dispersing agents for particle-size analysis of soils // *Highw. Res. Board Bull.* 1955. V. 95. P. 1–14.
 20. *Третьякова С.Г., Розенкевич М.Б., Растунова И.Л.* Совершенствование спектрофотометрической методики определения железа в растворе при его комплексообразовании с *o*-фенантролином // *Усп. в хим. и хим. технол.* 2007. Т. XXI. № 8(76). С. 18–22.
 21. МИ 2336–2002 ГСИ. Показатели точности, правильности, прецизионности методик количественного химического анализа. Методы оценки.

Method of Rapid Spectrophotometric Determination of Iron in Dithionite Extracts of Soils

N. N. Danchenko^{a, #}, E. V. Tsomaeva^a, D. A. Zhulidova^b, S. A. Khamatnurov^a, Z. S. Artemyeva^a

^a*Federal Research Center “V.V. Dokuchaev Soil Science Institute”,
Pyzhyovskiy per. 7, bld. 2., Moscow 119017, Russia*

^b*Lomonosov Moscow State University, Soil Science Faculty,
Leninskie gory 1, bld. 12, Moscow 119991, Russia*

[#]*E-mail: nataly_danch@mail.ru*

A method for the determination of dithionite iron for soil samples and fractions of the order of 20–25 mg with a spectrophotometric termination has been developed and optimized. Unlike the previously described methods, phenanthroline was used as a chromogen, which made it possible to simplify the analysis by eliminating the combustion stage. The procedure for processing samples with citrate-bicarbonate-dithionite extractant has been optimized. The repeatability and intra-laboratory reproducibility of the technique are investigated. Verification of the proposed methodology by comparison with the standard one showed good convergence of the results.

Keywords: dithionite Fe, determination technique, spectrophotometric detection, phenanthroline.