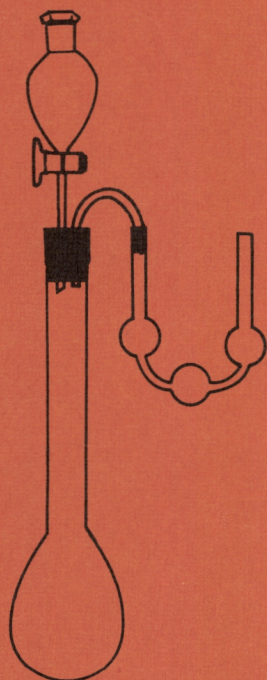


METSÄNTUTKIMUSLAITOKSEN  
TIEDONANTOJA 36  
MAANTUTKIMUSOSASTO ISSN 0358-4283



Olli Halonen ja Heikki Tulkki

## RAVINNEANALYYSIEN TYÖOHJEET



HELSINKI 1981

METSÄNTUTKIMUSLAITOS  
Kirjasto







METSÄNTUTKIMUSLAITOKSEN TIEDONANTOJA 36

Maantutkimusosasto

Olli Halonen ja Heikki Tulkki

RAVINNEANALYYSIEN TYÖOHJEET

Helsinki 1981

**METSÄNTUTKIMUSLAITOS**  
Kirjasto



## ALKULAUSE

Metsäntutkimuslaitoksen ylijohtaja asetti v. 1980 laboratorio- toimintoja ja laitehankintoja koordinoivan toimikunnan, jonka yhdeksi tehtäväksi annettiin laboratoriotoimintojen yhdenmu- kaistaminen ja kehittäminen. Jotta eri toimintayksiköissä tehtävien ravinnemääritysten tulokset saataisiin mahdollisim- man pitkälle vertailukelpoisiksi, toimikunta pyysi FM Olli H a l o s t a ja laboratorioteknikko Heikki T u l k k i a yhteislaboratoriosta laatimaan ravinneanalyysien työohjeet. Toimikunta esittää kiitoksensa ohjeiden laatijoille ja toivoo, että nyt julkaistavia ohjeita ryhdyttäisiin noudattamaan kai- kissa toimintayksiköissä, jollei jokin erityistarve edellytä muuta määrittystapaa.

Helsinki, joulukuussa 1981

Laboratorio- ja laitehankinta-  
toimikunta

ISSN 0358-4283

Helsinki 1981



## SISÄLLYS

1	JOHDANTO	4
2	NÄYTTEIDEN ESIKÄSITTELY	6
	2.1 Kasvinäytteet	6
	2.2 Humusnäytteet	6
	2.3 Mineraalimaanäytteet	6
3	TOTAALIANALYYSI	7
	3.1 Metallikationit ja fosfori	7
	3.2 Typpi	11
	3.2.1 Typpimääritys Kjeldahlin mukaan	11
	3.2.2 Kjeldahl-typen mittaus $\text{NH}_3$ -elektrodilla	13
	3.2.3 Kjeldahl-typpimääritys nitraattipitoi- sista näytteistä	14
	3.3 Boori	15
4	VAIHTUVAT JA HELPPOLIUKOISET RAVINTEET	18
	4.1 Vaihtuvat metallikationit ja liukeneva fosfori	18
	4.2 Vaihtuva ammoniumtyppi	21
	4.3 Liukeneva nitraatti	22
5	HIILIMÄÄRITYS TIURIN'IN MUKAAN	23



## 1 JOHDANTO

Nyt julkaistavat ravinneanalyysien työhjeet on tarkoitettu yleisohjeiksi, joita noudattamalla saadaan vaihtelevasta näytemateriaalista mahdollisimman vähäisellä työmäärällä kohtuullisen tarkat analyysitulokset. Näiden ohjeiden kirjaimellinen noudattaminen tulee varmaan joskus tuottamaan vaikeuksia. Jo se että laitoksen laboratorioden laitteisto ja välineistö on huomattavan heterogeeninen, tulee käytännössä pakostakin vaativaan joitakin poikkeamisia annetuista ohjeista. Tämä sallittakoon, kunhan menetelmien kemiallinen periaate pysytetään näiden ohjeiden mukaisena ja välttämättömissä laitteiden ja välineiden vaatimissa muutoksissa käytetään tervettä harkintaa.

Tässä yhteydessä on syytä korostaa sitä, että tarkasta työskentelystä huolimatta kemiallisessa analytiikassa saadaan joskus virheellinen tulos. Syynä saattaa olla esimerkiksi näytteen poikkeuksellinen koostumus tai mittauslaitteistoon huomaamatta tullut vika. On siis välttämätöntä, että analyysituloksia aika ajoin tarkistetaan. Tavallisimmat tarkistuksessa käytetyt menetelmät ovat ns. lisäysmenetelmä ja laimennusmenetelmä. Ensin mainitussa analysoidaan rinnakkain kaksi samasta materiaalista otettua näytettä, joista toiseen on lisätty tunnettu määrä määritettävää ionia. Jälkimmäisessä menetelmässä pipetoidaan mitattavasta liuoksesta sarja erilaisia laimennuksia, jotka mitataan rinnakkain samaan standardisarjaan verraten. Useimmissa tapauksissa nämä kaksi tarkistusta antavat vihjeen mahdollisista häiritsevistä interferenssi-ilmiöistä ja muista analyysivirheistä.

Koska ravinnemääritykset nykyisin perustuvat pääasiassa atomiabsorptiospektrofotometriin ja kolorimetriin mittauksiin, suositellaan tutustumista seuraaviin teoksiin:

DEAN, J.A. & RAINS, T.C. 1969. Flame emission and atomic absorption spectrometry. Vol. 1 - 3. Marcel Dekker. New York and London.

KOCH, O.G. & KOCH-DEDIC, G.A. 1964. Handbuch der Spurenanalyse. Springer-Verlag. Berlin, Göttingen, Heidelberg und New York.



## 2 NÄYTTEIDEN ESIKÄSITTELY

### 2.1 Kasvinäytteet

Näyte kuivatetaan mahdollisimman nopeasti 70°C:ssa. Lehti- ja neulasnäytteistä poistetaan rangat ja näyte jauhetaan mahdollisimman hienoksi. Hivenainemäärityksiin tarkoitettuja näytteitä jauhettaessa tulee myllyn seulaosan olla ruostumatonta terästä. Näyte säilytetään tiiviisti suljetussa astiassa tai pakkauksessa.

### 2.2 Humusnäytteet

Kuivatetaan kuten kohdassa 2.1. Poistetaan mahdolliset paksummat juuret ja kivet. Jatketaan kohdan 2.1 mukaan.

### 2.3 Mineraalimaanäytteet

Kuivatetaan kuten kohdassa 2.1. Jos voidaan olla varmoja siitä, että kuivaustilassa ei ole ammoniumsuoloista peräisin olevia ammoniakkihöyryjä, voidaan kuivatus suorittaa myös esim. laakeissa muoviastioissa ilmavassa lämpimässä paikassa. Kuivassa näytteessä mahdollisesti olevat paakut rikotaan posliinihuhmareessa ja näytteestä otetaan talteen 2 mm:n seulan läpi mennyt osa. Cu- ja Zn-määrityksiin tarkoitettuja näytteitä varten tulee seulan olla ruostumatonta terästä. Näytteen säilytys kuten kohdassa 2.1.

### 3 TOTAALIANALYYSI

#### 3.1 Metallikationit ja fosfori

Kasvi- tai humusnäyte poltetaan tuhkaksi, joka liuotetaan happoon ja liuoksesta mitataan kationit (pääravinteet: K, Ca, Mg ja joskus myös hivenaineet: Mn, Cu, Zn ja Fe) atomiabsorptiospektrofotometrillä. Koska AA-mittauksissa liuoksen vetyioni- ja anioniväkevyys usein vaikuttavat mittaustulokseen, standardien valmistuksessa on käytettävä samaa happoa kuin tuhkan liuottamisessa ja joka väkevyydeltään vastaa mitattavaa liuosta.

Fosfori määritetään samasta tuhkauutteesta. Näytteen koostuksesta riippuen voidaan valita sopivin kolmesta fotometrisestä menetelmästä:

- A. Molybdaatti-sulfiitti-metolimenetelmä
- B. Molybdaatti-hydratsiinimenetelmä
- C. Vanadomolybdaattimenetelmä.

Runsas liuoksessa oleva piihappo häiritsee A- ja C-menetelmissä, ja koska se lisäksi kationien mittauksessa aiheuttaa helposti AA-laitteen polttimon karstoittumista, se on syytä poistaa tuhkan liuottamisen yhteydessä. A-menetelmässä rauta ei häiritse, koska se pelkistetään kahden arvoiseksi ennen värjäysreagenssien lisäämistä. C-menetelmässä mittaus joudutaan suorittamaan aallonpituudella, jolla ferriraudan absorptio on huomattava, eikä sen pelkistäminen ole mahdollista. B-menetelmän etuja ovat värin erinomainen pysyvyys ja epäherkkyys raudan suhteen.

Jos laboratorioastioita on pesty synteettisillä pesuaineilla, fosforin määrittämisessä käytettävät astiat on pestävä väkevän rikkihapon ja metanolin seoksella sekä huuhdottava tislattulla vedellä.

## Suoritus:

Punnitaan 1 - 3 g kasvi- tai humusnäytettä taarattuun kvartsi- tai platinamaljaan. Pidetään yli yön kuivauskaapissa 105°C:ssa kuiva-aineen määrittämistä varten. Jäähdytetään eksikaattorissa ja punnitaan. Malja siirretään hehkutusuniin, jonka lämpötila kohotetaan hitaasti 550°C:een, jossa se saa olla 3 tuntia. Jäähdytetään eksikaattorissa ja punnitaan, jos halutaan määrittää tuhka.

Tuhka kostutetaan varovasti alkoholilla ja maljaan lisätään 2 - 3 ml suolahappoa (1 osa väk. HCl + 1 osa H<sub>2</sub>O). Liuos haihdutetaan kuiviin vesihauteella piihapon saostamiseksi. Kun suolahapon hajua ei enää tunnu, liuotetaan jäännös 10 ml:aan 1,0-n suolahappoa antamalla maljan olla vesihauteella kellolasilla peitettynä n. 20 min. Suodatetaan 100 ml:n mittapulloon ja pestään 0,1-n suolahapolla, kunnes suodosta on 100 ml. Kasvinäytteissä piihappopitoisuus on usein niin pieni, että suodattaminen on tarpeetonta. Analysoitava aine voidaan piihapon saostamisen ja jäännöksen liuottamisen jälkeen siirtää sakkoineen 0,1-n suolahapolla huuhtoen mittapulloon, josta sekoittamisen ja sakan laskeutumisen jälkeen kirkkaasta liuoksesta pipetoidaan varovasti mittaukseen tarvittava osa.

## K, Mg, Ca:

Pääravinteiden määrittämiseksi pipetoidaan 100 ml:n mittapullossa olevasta kirkkaasta liuoksesta tarvittava määrä 50 ml:n mittapulloon, lisätään 5 ml 5 % La-liuosta ja täytetään merkkiin 0,2-n suolahapolla. Sekoitetaan ja mitataan kationit atomiabsorptiospektrofotometrillä vertaamalla standardisarjaan, jossa on sama La-pitoisuus ja joka on 0,2-normaalinen suolahapon suhteen.

## Liuokset:

*La-liuos (5 %):* 58,64 g La<sub>2</sub>O<sub>3</sub> + 640 ml 2-n HCl. Liukenemisen



jälkeen laimennetaan vedellä 1000 ml:ksi.

*Standardiliuokset:* Perusstandardeina käytetään standardiampulleja, joista tehdään 1000 ppm:n liuokset 0,2-n suolahappoon. Näistä valmistetaan 100 ppm:n seosstandardi, siitä edelleen 10 ppm:n seosstandardi, josta laimennetaan käyttöstandardit. Käyttöstandardeihin lisätään lantaania samassa suhteessa kuin näyteliuoksiin. Kaikki laimennukset tehdään 0,2-n suolahappoon.

Mn, Fe, Cu, Zn:

Hivenaineet määritetään atomiabsorptiospektrofotometrillä suosaan 100 ml:n mittapullossa jäljellä olevasta liuksesta. Lantaaniliuosta ei lisätä.

Liuokset:

*Standardiliuokset:* Standardiampulleista tehdään 1000 ppm:n liuokset 0,2-n suolahappoon. Näistä tehdään seosstandardi, jossa on 500 ppm Fe sekä 100 ppm Mn, Cu ja Zn. Tästä laimennetaan edelleen seosstandardi, jossa on 50 ppm Fe, 10 ppm Mn, Cu ja Zn, ja tästä laimennetaan käyttöstandardit. Kaikki laimennokset tehdään 0,2-n suolahappoon. Lantaania ei lisätä.

P:

#### A. Molybdaatti-sulfiitti-metolimenetelmä

Fosforin määrittämiseksi pipetoidaan 100 ml:n mittapullossa olevasta liuksesta 2 - 5 ml 100 ml:n mittapulloon, lisätään 3 ml  $\text{NaHSO}_3$ -liuosta ja täytetään pullo n. 75 ml:ksi 0,2-n suolahapolla. Annetaan bisulfiitin vaikuttaa vesihauteella vähintään 3 tuntia. Voidaan jättää tulpalla suljettuna jäähtymään yli yön. Jäähtyneeseen liukseen lisätään 5 ml Mo-pelkistinseosta ja täytetään merkkiin 0,2-n suolahapolla. Sekoitetaan hyvin. 15 min seoksen lisäyksen jälkeen lisätään vielä 1,0 ml  $\text{SnCl}_2$ -käyttöliuosta ja sekoitetaan välittömästi. Kehittynyt väri mitataan 1 1/2 tunnin kuluttua spektrofoto-

metrillä aaltopituudella 670 nm vertaamalla standardisarjaan, joka on käsitelty samalla tavalla kuin näyte.

**Liukokset:**

*NaHSO<sub>3</sub>-liuos:* 50 g NaHSO<sub>3</sub> (tai 45,7 g Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) liuotetaan veteen ja laimennetaan 500 ml:ksi.

*Pelkistin:* 1 g metolia (metyl-p-aminofenylsulfaatti) + 10 g Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> · 7H<sub>2</sub>O + 150 g NaHSO<sub>3</sub> (tai 137 g Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) liuotetaan veteen ja laimennetaan 500 ml:ksi.

*Molybdaattiliuos:* 50 g (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub> · 4H<sub>2</sub>O liuotetaan n. 800 ml:aan vettä, lisätään 138 ml väk. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (tiheys 1,8) ja laimennetaan H<sub>2</sub>O:lla 1000 ml:ksi.

*Mo-pelkistinseos:* 6 ml pelkistintä ja 10 ml molybdaattiliuosta laimennetaan H<sub>2</sub>O:lla 100 ml:ksi. Jokaista mittauskertaa varten on tehtävä uusi seos.

*SnCl<sub>2</sub>-varastoliuos:* 2,5 g SnCl<sub>2</sub> · 2H<sub>2</sub>O liuotetaan 100 ml:aan glyserolia vesihauteella lämmittäen.

*SnCl<sub>2</sub>-käyttöliuos:* 5 ml SnCl<sub>2</sub>-varastoliuosta + 50 ml H<sub>2</sub>O. Valmistetaan kerrallaan vain yhtä mittaussarjaa varten.

*P-standardi 0,5 mg P/ml:* 2,197 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> liuotetaan 1000 ml:ksi 0,2-n HCl:lla. Käyttöstandardiksi laimennetaan samalla hapolla 0,005 mg P/ml.

**B. Molybdaatti-hydratsiinimenetelmä**

Pipetoidaan 100 ml:n mittapullossa olevasta liuksesta 1 ml (jossa saa olla enintään 5 mg Fe) 25 ml:n mittapulloon ja täytetään pullo puolilleen 0,2-n suolahapolla. Lisätään 5 ml molybdaattiliuosta ja sekoitetaan. Lisätään 1 ml hydratsiinisulfaattia, täytetään merkkiin 0,2-n suolahapolla ja sekoitetaan. Standardit käsitellään samalla tavalla. Pullot pannaan 97°C:een vesihauteeseen kaulaa myöten ja annetaan olla siinä n. 12 min. Jäähdytetään juoksevassa vedessä n. 10 min, sekoitetaan, annetaan seistä vähintään 1/2 tuntia ja mitataan aaltopituudella 822 nm.

**Liuokset:**

*Molybdaattiliuos:* 10 g  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  liuotetaan 800 ml:aan vettä, lisätään 120 ml väk.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (tiheys 1,8) ja laimennetaan vedellä 1000 ml:ksi.

*Hydratsiinisulfaatti:* 1 g hydratsiinisulfaattia liuotetaan veteen 200 ml:ksi.

*P-standardi* kuten menetelmässä A.

**C. Vanadomolybdaattimenetelmä**

Pipetoidaan 100 ml:n mittapullossa olevasta liuoksesta sopivan kokoinen näyte 25 ml:n mittapulloon. Lisätään 0,2-n suolahappoa niin paljon, että tilavuus on n. 15 ml ja sekoitetaan hyvin. Lisätään 5 ml vanadomolybdaattiliuosta, täytetään merkkiin 0,2-n suolahapolla ja sekoitetaan. Annetaan seistä n. 15 min. ja mitataan aaltopituudella 336 nm käyttämällä vertailuliuksena 0-standardia.

Suhteellisen pienetkin rautamäärät häiritsevät määrittystä. Esimerkiksi 20  $\mu\text{g}$  Fe aiheuttaa lukemalisäyksen, joka vastaa n. 1  $\mu\text{g}$ :n fosforilisäystä näytteestä.

**Liuokset:**

*Vanadomolybdaattiliuos:* 1 g  $\text{NH}_4\text{VO}_3$  liuotetaan n. 800 ml:aan kuumaa vettä. Kun liuos on jäähtynyt n.  $50^\circ\text{C}$ :een, lisätään 20 g  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ . Liuotetaan ja jäähdytetään. Lisätään 42 ml väk.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (tiheys 1,8) tai 140 ml väk.  $\text{HNO}_3$  (tiheys 1,4) ja jäähdyttyä täytetään vedellä 1000 ml:ksi.

*P-standardi* kuten menetelmässä A.

**3.2 Typpi****3.2.1 Typpimääritys Kjeldahlin mukaan**

Tässä esitetty typenmäärittymenetelmä Kjeldahlin mukaan on klassinen perusmenetelmä, joka ei edellytä erikoislaitteita.



Jos laboratoriossa on käytettävissä jokin tehdasvalmisteinen typenmäärityslaitteisto, on syytä noudattaa laitteen käyttö-ohjeissa annettuja menetelmiä. Laitteen valmistajan suosittelemat  $K_2SO_4$ - ja katalysaattoritabletit voidaan kustannussyistä yleensä korvata perusmenetelmässä mainituilla kemikaaleilla. Typenmäärityksessä on aina syytä ajoittain suorittaa tarkistuksia, esim. määrittämällä erilaisten koostumukseltaan tunnettujen puhtaiden typpiyhdisteiden typpipitoisuus.

Laajempaa tietoa Kjeldahl-menetelmästä ja sen muunnoksista on löydettävissä esim. teoksesta:

BRANDSTREET, R.B. 1965. The Kjeldahl method for organic nitrogen. Academic Press. New York and London.

Suoritus:

Punnitaan 1 - 2 g analysoitavaa orgaanista ainetta tai 5 g mineraalimaata 300 ml:n Kjeldahl-kolviin. Lisätään n. 10 g  $K_2SO_4$  ja katalysaattoriksi veitsenkärjellinen  $CuSO_4$  sekä 20 ml väkevää  $H_2SO_4$ . Kolvi asetetaan typenpolttotelineeseen ja aloitetaan lämmittäminen pienellä liekillä varoen kuohumista. Liekkiä suurennetaan varovasti ja annetaan liuoksen kiehua, kunnes se on väriltään puhtaan vihreä. Tämän jälkeen liuos saa vielä hiljalleen kiehua noin tunnin ajan.

Liuoksen jäähtyttyä lisätään varovasti 100 ml tislattua vettä ja sekoitetaan. Liuos siirretään tislauskolviin ja Kjeldahl-kolvi huuhdotaan vielä muutaman kerran tislatusvedellä, yhteensä n. 100 ml. 200 ml:n merkillä varustettuun 300 ml:n erlenmeyerpulloon pipetoidaan 50 ml boorihappoliuosta, jossa on indikaattori mukana. Pullo asetetaan tislauslaitteeseen siten, että jäähtyttäjän alaputken pää jää pullossa olevan boorihapon pinnan alapuolelle.

Tislauskolviin lisätään kiehumakiviä ja 100 ml NaOH-liuosta. Lipeän lisäämisen jälkeen kolvi yhdistetään heti jäähtyttäjään, ettei synny ammoniakkihäviötä. Aloitetaan kuumentaminen.

Kun kiehumisen alkamisesta on kulunut n. 5 min, voidaan erlenmeyerpullo laskea alas ja huuhtoa tislauksputken alapää vedellä. Tislausta jatketaan erlenmeyerpulloissa olevaan 200 ml:an merkkiin asti. Tislausta titrataan 0,1-n rikkihapolla. Ekvivalenttikohta on saavutettu, kun liuos alkaa punoittaa (vrt. sokea koe).

Liuokset:

*NaOH-liuos:* 6 kg tekn. NaOH + 10 l H<sub>2</sub>O. Vesijohtovettä voidaan käyttää, jos se on todettu ammoniakivapaaksi.

*Indikaattoriliuos:* 300 mg metyyliipunaista + 450 mg bromkresolivihreää + 600 ml 94 % etanolia.

*Boorihappoliuos:* 400 g boorihappoa + 50 ml indikaattoriliuosta liuotetaan tislattuun veteen ja täytetään 10 litraksi. Boorihappo on hidaskiiliäinen, joten liuosta on päivittäin sekoitettava liukenemisen jouduttamiseksi.

*Sokea koe:* 50 ml boorihappoliuosta laimennetaan 200 ml:ksi. Jos liuos on punainen, lisätään byretistä 0,1-n NaOH, kunnes väri on heikosti punertava. Vastaava NaOH-lisäys tehdään koko boorihappoliuoserään ja toistetaan koe, jolloin varmistetaan, että on saatu haluttu ekvivalenttikohta vastaava väri.

### 3.2.2 Kjeldahl-typen mittaus NH<sub>3</sub>-elektrodilla

Suoritus:

Kjeldahl-poltton jälkeen jäähtynyt kolvi, joka on varustettu 300 ml:n merkkiviivalla, täytetään merkkiin tislattulla ammoniakivapaalla vedellä. Sekoitetaan ja pipetoidaan siitä 5 ml 150 ml:n dekantterilasiin. Lisätään 95 ml NaOH-käyttöliuosta, sekoitetaan magneettisekoittajalla ja mitataan välittömästi NH<sub>3</sub>-elektrodilla. Tarvittavista standardiliuoksista pipetoidaan myös 5 ml ja menetellään samoin kuin varsinaisen näytteen kanssa. (Kts. myös NH<sub>3</sub>-elektrodin mukana toimitettua käyttöohjetta.)

## Liuokset:

*Tislattu vesi*, josta on poistettu ammoniakki (esim. ioninvaihtajan avulla).

*Väkevä NaOH-liuos*: 600 g NaOH liuotetaan veteen ja laimennetaan 1000 ml:ksi.

*NaOH-käyttöliuos*: 12 ml väkevää NaOH-liuosta laimennetaan H<sub>2</sub>O:lla 1000 ml:ksi.

*Standardiliuokset*: 10 ml 30 % NH<sub>3</sub> laimennetaan tislatulla vedellä 100 ml:ksi. Tämän liuoksen NH<sub>3</sub>-pitoisuuden määrittämiseksi otetaan siitä 2 ml, joka titrataan useita kertoja 0,2-n hapolla (keskiarvo). NH<sub>3</sub>-liuos laimennetaan 1-normaaliseksi tislatulla vedellä. Tästä laimennetaan väkevin standardi (st. 10) 0,02-n NH<sub>3</sub>, josta edelleen laimeammat standardit.

0,02-n NH<sub>3</sub> = st. 10

0,002-n NH<sub>3</sub> = st. 1

0,001-n NH<sub>3</sub> = st. 0,5

0,0002-n NH<sub>3</sub> = st. 0,1,

Laimentimena standardeissa käytetään seosta, joka suunnilleen vastaa Kjeldahl-poltton jälkeen muodostunutta liuosta:

10 g K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + 0,5 g CuSO<sub>4</sub> + 10 ml väk. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 300 ml:ssa H<sub>2</sub>O.

## 3.2.3 Kjeldahl-typpimääritys nitraattipitoisista näytteistä

Kokonaistypen määrittäminen nitraattipitoisista näytteistä ei onnistu tavallisella Kjeldahl-menetelmällä. Osa nitraatista haihtuu typpihappona reaktiokolvista, ennenkuin ammoniakkiä muodostava reaktio on käynyt loppuun. Nitraatti joudutaan näin ollen ensin pelkistämään ammoniakiksi ja vasta sitten voidaan jatkaa Kjeldahl-menetelmän mukaisesti.

## Suoritus:

Kjeldahl-kolviin (300 ml) punnitaan 2 g analysoitavaa näytettä. Lisätään 3 g Devardan seosta ja sekoitetaan. Jos kyseessä on kuiva näyte, kostutetaan seos ja annetaan veden imeytyä siihen yli yön. Jos määritetään liuoksen typpipitoisuus, pipetoidaan kolviin sopiva tilavuus, johon lisätään Devardan seos.

Kummassakin tapauksessa lisätään kolviin ioninvaihtajalla puhdistettua tislattua vettä, niin että nestetilavuudeksi tulee n. 50 ml sekä 2 ml Antifoam-liuosta.

Kolvi suljetaan tiputussuppilolla ja U-putkella varustetulla kumitulpalla (kts. kansikuva) ja U-putkeen pipetoidaan 10 ml  $H_2SO_4$  (10 til.%) sekä suljetaan putken suu suodatinpaperitulpalla. Tiputussuppilon kautta lisätään 5 ml NaOH-liuosta (tiheys 1,4) ja huuhdotaan suppiloon jäänyt NaOH-liuos pienellä vesimäärällä kolviin. Heilutetaan, niin ettei syntyvä vaahdot pääse nousemaan kolvin kaulaan. Reaktion annetaan jatkua 1/2 tuntia, jonka jälkeen kuumennetaan kiehumispisteeseen ja annetaan reaktion jatkua tässä lämpötilassa edelleen tunnin ajan.

Seoksen jäähtyttyä lisätään tiputussuppilon kautta 20 ml  $H_2SO_4$  (50 til.%) siten, että kolvin kaula ja seinämät huuhtoutuvat, sekoitetaan ja annetaan jäähtyä. Tulppa avataan ja U-putkessa oleva liuos huuhdotaan kolviin, jonne pannaan myös U-putken suulla ollut paperituppo.

Kolvissa oleva ylimääräinen vesi haihdutetaan vesihauteella. Jatketaan kuten tavallisessa Kjeldahl-poltossa lisäämättä kuitenkaan kalium- ja kuparisulfaattia.

DYER, H. & HAMENCE, J.H. 1938. The determination of nitrogen in mixed fertilizers containing nitrates and chlorides. The Analyst 63 (1938) 866 - 870.

### 3.3 Boori

Boorin määrittystä vaikeuttaa se, että boorihappo haihtuu helposti vesihöyryn mukana. Siksi booria on usein myös tislatussa vedessä ja hyvin heikkona happona se ei pidä täysin ioninvaihtajiinkaan. Varsinkin pieniä booripitoisuuksia määrittäessä on syytä käyttää standardien ja reagenssien valmistuksessa samalla kerralla puhdistettua vettä.



## Suoritus:

Punnitaan 1 g näytettä taarattuun kvartsiupokkaaseen ja kuivataan yli yön 105°C:ssa. Jäähdytetään eksikaattorissa ja punnitaan kuiva-aineen määrittämiseksi. Poltetaan 550°C:ssa 3 tuntia. Tuhka uutetaan 10 ml:lla fosfori-rikkihapposeosta. Sekoitetaan magneettisekoittajalla heti happolisäyksen jälkeen, peitetään upokas kannella ja annetaan seistä yli yön. Lisätään 5 ml 1-n NaOH-liuosta koko ajan sekoittaen ja suodatetaan. Suodosta pipetoidaan 4 ml kannella varustettuun 10 ml:n muovisylinteriin. Lisätään 2 ml puskuriliuosta, sekoitetaan ja lisätään 2 ml atsometiini-H-reagenssia. Sekoitetaan ja mitataan muodostunut väri spektrofotometrillä 1 tunnin kuluttua aaltopituudella 425 nm. Vesinäyte (1 %:ssa etikkahapossa) käsitellään samoin kuin kasvinäytetuhkan suodos.

## Liuokset:

Kaikki liuokset on valmistettava ja säilytettävä muoviastioissa.

*B-standardi:* 571,5 mg boorihappoa liuotetaan 0,2-n suolahappoon ja täytetään samalla hapolla litraksi. Tämä liuos sisältää 100 ppm B. Tästä laimennetaan 10 ppm B-liuos, josta valmistetaan käyttöstandardit 0 - 0,06 ppm B. Laimentimena käytetään liuosta, jossa on 1 osa 1-n NaOH ja 2 osaa fosfori-rikkihapposeosta. Säilyvyyden vuoksi käyttöstandardeihin lisätään valmiiksi puskuriliuosta: 100 ml standardia + 50 ml puskuria. Tätä pipetoidaan 6 ml mittaukseen.

Vesinäytteiden määrittämisessä käytetään standardien laimentimena 1 %:sta etikkahappoa. Puskuria ei tarvitse lisätä.

*Fosfori-rikkihapposeos:* 40 ml fosforihappoa (85 %, tiheys 1,71) laimennetaan vedellä litraksi, jolloin saadaan n. 0,6-M  $H_3PO_4$ . Sekoitetaan 0,4-n  $H_2SO_4$  ja 0,6-M  $H_3PO_4$  suhteessa 1:1. Seos tarkistetaan pipetoimalla sitä 10 ml, joka titrataan 1-n NaOH:lla pH 4,5:een. Kulutuksen pitää olla 5 ml.

*Puskuriliuos:* 7 g EDTA:ta liuotetaan vesihauteella lämmittäen n. 200 ml:aan väkevää heilutusasettaattia C (kts. 19). Täyte-

tään samalla liuoksella 250 ml:ksi. Suodatetaan tarvittaessa. *Atsometiini-H-reagenssi*: 1 g atsometiini-H:ta ja 3 g askorbiinihappoa liuotetaan 200 ml:aan vettä. Suodatetaan tarvittaessa ja siirretään pienempiin muovipulloihin, jotka täytetään siten, että niihin jää mahdollisimman vähän ilmatilaa. Säilytetään jääkaapissa. Käyttöä varten lämmitetään huoneenlämpöiseksi.

*Atsometiini-H:n valmistus H-haposta*: 18 g H-happoa (8-amino-1-naftol-3,6-disulfonihappo) liuotetaan 1 litraan tislattua vettä dekantterilasissa n. 40°C:ssa. Liuos neutraloidaan 10 % KOH:lla pH 7:ään. Nostetaan lämpötila 80 - 85°C:een, lisätään tipottain väkevää HCl:ää jatkuvasti sekoittaen, kunnes saavutetaan pH 1,5. Jos syntyy sakkaa, sen on annettava liueta, ennen kuin HCl:n lisäämistä jatketaan. Kuuma liuos siirretään kolviin, joka voidaan varustaa pystyjäähdyttäjällä. Lisätään 20 ml salisylaldehydiä ja pidetään pystyjäähdyttäjän alla 1 tunti 85 - 90°C:ssa tehokkaasti sekoittaen. Liuos siirretään takaisin alkuperäiseen dekantterilasiin, jossa se saa seistä kellolasilla peitettynä 16 tuntia. Erottunut oranssinvärinen sakka suodatetaan Büchnerin suodattimella, pestään viisi kertaa etanolilla ja kuivataan 3 tuntia 100°C:ssa. Säilytetään eksikaattorissa ruskeassa pullossa. (Atsometiini-H-reagenssia voi myös ostaa valmiina.)

#### 4 VAIHTUVAT JA HELPPOLIUKOISET RAVINTEET

##### 4.1 Vaihtuvat metallikationit ja liukeneva fosfori

Kasveille käyttökelpoisessa muodossa olevat ravinnemäärät pyritään selvittämään vaihtoreaktion avulla, jossa jollakin kationilajilla syrjäytetään maahiukkasiin adsorboituneet muut kationit. Vaihtoreaktiossa syntyneen tasapainotilan asema eli maahiukkasista liuokseen siirtyneiden kationien määrä riippuu ensi sijassa uuttoliuksen happamuudesta, mutta varsinkin savimineraalien ja kiilteiden kyseessä ollen myös vaihtavan kationin ionisäteestä.

Suomessa on uuttoliuksena yleisimmin käytetty hapanta ammoniumasettaattia, josta on määritetty K, Ca ja P sekä nykyisin myös Mg. Hivenaineita, varsinkin kuparia, uuttuu tähän liuokseen melko pieniä määriä. Tämän vuoksi on ehdotettu, että uuttoliuksena käytettyyn happameen ammoniumasettaattiin lisättäisiin etylendiamintetraetikkahappoa (EDTA), joka vahvana kelaatinmuodostajana uuttaa myös orgaaniseen ainekseen sitoutuneita hivenravinteita. Analyysin kulun yksinkertaistamiseksi sekä johdonmukaisuuden vuoksi on näissä ohjeissa kuitenkin päädytty määrittämään hivenravinteet samasta uuttoliuksesta kuin pääravinteet.

LAKANEN, E. & ERVIÖ, R. 1971. A comparison of eight extractants for the determination of plant available micronutrients in soils. *Acta Agr. Fenn.* 128: 223 - 232.

VUORINEN, J. & MÄKITIE, O. 1955. The method of soil testing in use in Finland. *Agrogeol. Publ.* 63: 1 - 44.

Suoritus:

K, Mg, Ca:

Punnitaan tutkittavaa ilmakeivää näytettä, mineraalimaata 15 g tai humusta 5 g, 200 - 300 ml:n vakiopulloon. Lisätään 150 ml ammoniumasetaattia (heilutusasettaatti, liuos H), sekoitetaan ja annetaan seistä yli yön. Seuraavana aamuna heilutetaan koneellisesti 1 tunti, jonka jälkeen suodatetaan. Kirkkaasta suodoksesta otetaan kationien määrittystä varten humusnäytteestä 10 ml ja mineraalimaanäytteestä 46 ml 50 ml:n mittapulloon, lisätään 4 ml La-liuosta, täytetään merkkiin heilutusasettaatilla ja sekoittamisen jälkeen mitataan atomiabsorptiospektrofotometrillä.

Mn, Fe, Cu, Zn:

Suodoksesta mitataan kationit atomiabsorptiospektrofotometrillä. Lantaania ei lisätä.

Liuokset:

*La-liuos:* 73,3 g  $\text{La}_2\text{O}_3$  + 891 ml 6-n HCl liuotetaan ja täytetään tislattulla vedellä 1000 ml:ksi.

*6-n HCl:* 516 ml väk. HCl laimennetaan tislattulla vedellä 1000 ml:ksi.

*Heilutusasettaatin (H) valmistus:* Punnitaan 4 - 5 kg ammoniumasetaattia  $\text{CH}_3\text{COONH}_4$  ja liuotetaan se täysin tislattuun veteen 6 - 7 litraksi. Tämä on lähtöliuos L, josta pipetoidaan määrittystä varten 5 ml ja laimennetaan vedellä 100 ml:ksi. Saadaan määrittäysliuos M. Määrittäysliuoksesta pipetoidaan tislaukolviin 5 ml + 200 ml  $\text{H}_2\text{O}$  + 10 ml NaOH, tislataan boorihappoon, kuten totaalityypen Kjeldahl-määrittäyksessä on neuvottu ja titrataan 0,1-n  $\text{H}_2\text{SO}_4$ :lla (kulutus n. 20 ml).

$$v_1 \cdot n_1 = v_2 \cdot n_2 \quad \text{eli} \quad 5 \cdot n_M = v_{\text{H}_2\text{SO}_4} \cdot 0,1$$

Lähtöliuoksen normaalisuus  $n_L = 20 \cdot n_M$ . Valmistettaessa 10 l väkevää heilutusasettaattia (C) tarvitaan lähtöliuosta L



$$V_L \text{ litraa} = \frac{10 \cdot 5}{n_L}$$

Tilavuuteen  $V_L$  lisätään 3 l väk. etikkahappoa ja tislattua vettä, kunnes sekoittamisen jälkeen kokonaistilavuus on 10 l. Tämä on väkevä heilutusasetta C.

Tarkistus: Laimennetaan vedellä näyte C-liuoksesta 10 kertaiseksi ja mitataan näin saadun heilutusasetan H happamuus, jonka tulisi olla  $pH = 4,65$  (4,60 - 4,70).

*Standardit:* Vaihtuvien ravinteiden määrityksessä tarvittavat standardit valmistetaan samoista 1000 ppm:n perusstandardeista ja samalla tavalla kuin totaalianalyysin standardit, mutta kaikki laimennukset tehdään 0,2-n suolahapon asemesta heilutusasetatilla.

P:

Liukenevan fosforin määrittämiseksi on käytettävissä kaksi menetelmää:

- A. Molybdaatti-sulfiitti-metolimenetelmä
- B. Molybdaatti-hydratsiinimenetelmä

Suoritus:

#### A. Molybdaatti-sulfiitti-metolimenetelmä

Samasta suodoksesta, josta määritetään vaihtuvat kationit, pipetoidaan tarvittavan suuruinen osa 100 ml:n mittapulloon, humusnäytteestä 5 - 10 ml ja mineraalimaanäytteestä 25 - 50 ml. Lisätään 25 ml 2-n  $H_2SO_4$  sekä 3 ml  $NaHSO_3$ -liuosta ja täytetään pullo n. 75 ml:ksi heilutusasetatilla. Sen jälkeen menetellään samoin kuin totaalianalyysissä (kts. s. 9) paitsi, että merkkiin täyttö tapahtuu heilutusasetatilla.

Liuokset:

2-n  $H_2SO_4$ : 280 ml väk.  $H_2SO_4$  (tiheys 1,8) laimennetaan tislattulla vedellä 5 litraksi.

P-käyttöstandardi: 0,5 mg P/ml (kts. s. 10) laimennetaan hei-

lutusasetaatilla käyttöstandardiksi, jossa on 0,005 mg P/ml.  $\text{NaHSO}_3$ -liuos, Mo-pelkistinseos ja  $\text{SnCl}_2$ -käyttöliuos: Samat kuin totaalianalyysissä (s. 10).

#### B. Molybdaatti-hydratsiinimenetelmä

Suodoksesta pipetoidaan 25 ml:n mittapulloon tarvittavan suuruisen osa, humusnäytteestä 2 - 5 ml ja mineraalimaanäytteestä 10 ml. Lisätään 9 ml 1,7-n  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 5 ml molybdaattia ja 1 ml hydratsiinisulfaattia. Täytetään merkkiin heilutusasetaatilla, jos pipetointi on pienempi kuin 10 ml, ja sekoitetaan. Standardit käsitellään samoin. Pullot pannaan  $97^\circ\text{C}$ :een vesihauteeseen kaulaa myöten ja annetaan olla siinä n. 12 min. Jäähdytetään juoksevassa vedessä n. 10 min, sekoitetaan, annetaan seistä vähintään  $1\frac{1}{2}$  tuntia ja mitataan aaltopituudella 822 nm.

Liuokset:

*Molybdaatti ja hydratsiinisulfaatti:* Samat kuin totaalianalyysissä (s. 11).

1,7-n  $\text{H}_2\text{SO}_4$ : 47 ml väk.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (tiheys 1,8) laimennetaan vedellä 1000 ml:ksi.

*P-käyttöstandardi:* 0,5 mg P/ml (kts. s. 10) laimennetaan heilutusasetaatilla käyttöstandardiksi, jossa on 0,005 mg P/ml.

#### 4.2 Vaihtuva ammoniumtyppi

Punnitaan 20 g maata 400 ml:n dekantterilasiin, johon lisätään 250 ml KCl-liuosta. Sekoitetaan ja annetaan seistä yli yön. Sekoitetaan ja suodatetaan. Suodoksesta pipetoidaan osa (10 - 50 ml n. 0,05 - 0,25 mg  $\text{N}_{\text{NH}_3}$ ) tislaukolviin ja lisätään vettä niin paljon, että nestettä on kaikkiaan n. 150 ml. Alusastiana on 100 ml:n mittapullo, jossa on 1 ml gelatiiniliuosta ja vettä niin paljon, että jäähdyttäjän alaputki jää nestepinnan alle. Tislaukolviin lisätään 2 g MgO ja tislataan, kunnes mittapullo on täyttynyt merkkiin. Lisätään 1 ml Nesslerin reagenssia, sekoitetaan ja mitataan syntynyt väri spektrofotometrillä tasan 5 minuutin kuluttua reagenssin lisäyksestä aalto-

pituudella 400 nm.

Jos vaihtuvaa ammoniumtyyppiä on paljon, voidaan se tislata suodoksesta magnesiumoksidilla boorihappoon ja määrittää titraamalla kuten Kjeldahl-menetelmässä, tai mitata suodoksesta suoraan  $\text{NH}_3$ -elektrodilla, jolloin standardeissa tulee olla sama  $\text{KCl}$ -väkevyys kuin uuttoliuoksessa.

**Liuokset:**

Reagensseihin ja analyysiin tarvittava vesi on pudistettava ammoniakkivapaaksi esim. ioninvaihtajalla.

*KCl-liuos:* Kyllästetty  $\text{KCl}$ -liuos laimennetaan suhteessa 1:10.

*Gelatiiniliuos:* 500 mg gelatiinia, 10 ml 0,2-n  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ja 90 ml  $\text{H}_2\text{O}$  annetaan kiehua hiljaa n. 10 min kellolasilla peitettyssä dekantterilasissa. Kaadetaan kuumana kuivauskaapissa ( $105^\circ\text{C}$ ) kuumennettuun säilytyspulloon. Säilytetään jääkaapissa. Pienikin liuokseen syntynyt sameus aiheuttaa liuoksen uusimisen.

*Nesslerin reagenssi:* 100 g  $\text{HgJ}_2$  ja 80 g  $\text{KJ}$  liuotetaan 100 ml:aan  $\text{H}_2\text{O}$ . Kun liuos on kirkas, lisätään liuos, jossa on 200 g  $\text{NaOH}$  900 ml:ssa  $\text{H}_2\text{O}$ . Säilytetään ruskeassa pullossa.

#### 4.3. Liukeneva nitraatti

Ammoniumtyypen määrittämistä varten suodatetusta  $\text{KCl}$ -uutteesta pipetoidaan loput (150 - 200 ml) tislaukolviin, lisätään 1 ml kyllästettyä  $\text{NaOH}$ -liuosta ja tislataan vapautuva ammoniakki alusastiaan. Kun kolvissa olevaa liuosta on jäljellä n. 50 ml, sammutetaan liekki, huuhdotaan tislaukputken alapää vedellä ja annetaan kolvin jäähtyä jonkin aikaa. Lisätään kolviin n. 100 ml ammoniakkivapaata vettä, 10 ml kyllästettyä  $\text{NaOH}$ -liuosta sekä n. 3 g Devardan seosta, jonka jälkeen kolvi välittömästi suljetaan jäädyttäjän tulpalla. Ammoniakiksi pelkistynyt nitraatti tislataan 100 ml:n mittapulloon ja mitataan Nesslerin reagenssilla, kuten kohdassa 4.2 on neuvottu. Suuret määrät titraamalla tai  $\text{NH}_3$ -elektrodilla.

## 5 HIILIMÄÄRITYS TIURIN'IN MUKAAN

Kuivaan 300 ml:an erlenmeyerpulloon punnitaan ilmakeivasta, erittäin huolellisesti sekoitetusta näytteestä 1,00 - 0,25 g (C-horisontista tavallisesti 1,00 g, hyvin humuspitoisesta maasta 0,25 g). Lisätään 10 ml 1-n  $K_2Cr_2O_7$  sekä 20 ml väkevää  $H_2SO_4$ , sekoitetaan heiluttamalla pulloa varovasti ja asetetaan kellolasilla peitettyä tunniksi kiehuvalle vesihauteelle. Jäähdytetään ja laimennetaan noin 150 ml:lla kylmää vesijohtovettä. Lisätään 2,5 ml väkevää  $H_3PO_4$  (tiheys 1,70) sekä indikaattoriksi 5 tippaa 5 % difenylaminiliuosta. Lopuksi titraataan kylmänä ylimääräinen  $K_2Cr_2O_7$  0,4-n  $FeSO_4$ -liuoksella. (Ekvivalenttipisteessä liuoksen väri muuttuu voimakkaan sinisestä likaisenvihreäksi.) Kromaatin kulutus voidaan myös mitata potentiometrisellä titrauksella. Jos näytteessä on runsaasti juurenkappaleita tai muuta ainetta, joka vaikeuttaa homogenisointia, on tehtävä rinnakkaismääritykset.

$$10 \text{ ml } 1\text{-n } K_2Cr_2O_7 \text{ vastaa } 25 \text{ ml } 0,4\text{-n } FeSO_4$$

$$a = n \cdot v \cdot E_p \text{ eli } a(\text{mgC}) = 0,4 \cdot (25 - v) \cdot \frac{12}{4},$$

jossa  $v = FeSO_4$ :n kulutus ml:ssa.

Liuokset:

1-n  $K_2Cr_2O_7$ : 49,036 g  $K_2Cr_2O_7$  liuotetaan veteen ja laimennetaan 1000 ml:ksi.

Normaalisuus tarkistetaan titraamalla liuos 0,4-n  $FeSO_4$ -liuoksella.

Esim. 5 ml  $K_2Cr_2O_7$

$$\text{normaalisuus} = \frac{FeSO_4\text{:n kulutus} \cdot 0,4}{5}$$

0,4-n  $FeSO_4$ : punnitaan tarkasti 156,856 g  $(NH_4)_2Fe(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$  liuotetaan veteen ja laimennetaan 10000 ml:ksi.

5 % difenylamini-liuos: 5 g difenylamina / 100 ml 75 %  $H_2SO_4$ .









