



Продовольственная и
сельскохозяйственная организация
Объединенных Наций

Стандартная рабочая методика определения органического углерода почвы

**методом Уокли-Блэка
титрованием и колориметрическим
методом**



Глобальное почвенное
партнерство

Глобальная Сеть Почвенных Лабораторий ГЛОСОЛАН	ГЛОСОЛАН-СОП-02	
ОБЩИЙ УГЛЕРОД ПОЧВЫ Метод Уолкли-Блэка: Титриметрический и колориметрический методы	Номер версии: 1	Страница 1 из 19
	Дата вступления в действие: 28 октября 2019	

СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОРГАНИЧЕСКОГО УГЛЕРОДА В ПОЧВАХ МЕТОД УОЛКЛИ-БЛЭКА

Титриметрический и колориметрический методы

История версий

№	Дата	Описание модификации	Тип модификации
01	30 июля 2019	Доработка черновой версии	Обобщение всех материалов, полученных от региональных сетей РЕСОЛАН
02	28 октября 2019	Окончательное рассмотрение протокола на 3-м совещании ГЛОСОЛАН	Рассмотрение этапов протокола, итоговое обсуждение и согласование
03			
04			

Модифицировано	Пересмотр	Дата утверждения	Дата подтверждения
ГЛОСОЛАН СОП Тех. рабочей группой, Руководитель: Дж. Нило, Филиппины	3-е совещание ГЛОСОЛАН	3-е совещание ГЛОСОЛАН	27 октября 2019

Глобальная Сеть Почвенных Лабораторий ГЛОСОЛАН	ГЛОСОЛАН-СОП-02	
ОБЩИЙ УГЛЕРОД ПОЧВЫ Метод Уолкли-Блэка: Титриметрический и колориметрический методы	Номер версии: 1	Страница 2 из 19
	Дата вступления в действие: 28 октября 2019	

Оглавление

1. Введение: важность органических соединений углерода в функционировании почв	3
2. Сфера действия и область применения	4
3. Принцип метода	4
4. Оборудование	5
4.1. Для титриметрического метода	5
4.2. Для колориметрического метода	6
5. Реактивы	6
5.1. Для титриметрического метода	6
5.2. Для колориметрического метода	7
6. Охрана здоровья и безопасность	8
6.1. Безопасность персонала	8
6.2. Опасность химикатов	8
7. Пробоподготовка	9
8. Ход анализа	9
8.1. Титриметрический метод	9
8.2. Колориметрический метод	11
9. Расчеты	12
9.1. Титриметрический метод	12
9.2. Колориметрический метод	13
10. Обеспечение качества/контроль качества	13
10.1. Проверка достоверности измерений	13
10.2. Проверка точности метода (сходимости результатов)	14
10.3. Протокол проверки	15
11. Справочные документы	15
12. Приложение I. Благодарности	16
13. Приложение II. Список авторов	16
14. Приложение III. Лаборатории-участники	16

Модифицировано	Пересмотр	Дата утверждения	Дата подтверждения
ГЛОСОЛАН СОП Тех. рабочей группой, Руководитель: Дж. Нило, Филиппины	3-е совещание ГЛОСОЛАН	3-е совещание ГЛОСОЛАН	27 октября 2019

Глобальная Сеть Почвенных Лабораторий ГЛОСОЛАН	ГЛОСОЛАН-СОП-02	
ОБЩИЙ УГЛЕРОД ПОЧВЫ Метод Уолкли-Блэка: Титриметрический и колориметрический методы	Номер версии: 1	Страница 3 из 19
	Дата вступления в действие: 28 октября 2019	

1. Введение: важность органических соединений углерода в функционировании почв

Органические соединения углерода являются важнейшими компонентами почв, поскольку оказывают влияние практически на все почвенные свойства. Углерод в составе почвенного органического вещества (ПОВ) влияет на физические, химические и биологические свойства почв. К ПОВ относят все разложившиеся, частично разложившиеся и неразложившиеся органические материалы растительного и животного происхождения. Обычно это синоним гумуса, хотя последний чаще используется для обозначения хорошо разложившегося органического вещества, представленного гуминовыми веществами. ПОВ является основным показателем качества почвы. Улучшение гумусного состояния почв создает более благоприятную почвенную среду, что приводит к увеличению продуктивности растений. Более высокие уровни ПОВ способствуют увеличению водоудерживающей способности почвы, что приводит к повышению урожайности, снижает эрозию почвы, увеличивает удержание питательных веществ в растениях и увеличивает биологическое разнообразие. Кроме того, улучшается агрегация частиц почвы, что приводит к улучшению ее структуры, обеспечивает движение воздуха и влаги через почву, а также способствует росту корней. Более стабильная структура почвы препятствует эрозии, и таким образом предотвращается вынос элементов питания растений и загрязнение природных вод.

Органический углерод почвы (ПОУ) влияет на катионообменную способность почв. Катионообменные позиции в его составе удерживают питательные вещества, такие как кальций, магний и калий. ПОУ часто также обеспечивает связывание многих антропогенных органохимикатов, что сводит к минимуму вымывание токсичных веществ через почвенный профиль или делает их менее биодоступными, таким образом снижая токсичность.

Увеличение содержания ПОВ способствует увеличению биомассы и разнообразия почвенной биоты. Поскольку почвенное микробное сообщество во многом определяет направления трансформации питательных веществ в почве, доступность питательных веществ для растений часто увеличивается с ростом микробной биомассы и микробиологической активности почвы.

Для целей классификации содержание ПОУ в минеральных горизонтах можно оценить по цвету сухой и/или влажной почвы, используя шкалу Манселла с учетом гранулометрического состава. Эта оценка основана на предположении, что цвет почвы (значение Манселла) обусловлен смесью органических веществ темного цвета и минералов светлого цвета. Такая оценка не очень хорошо работает в окрашенных нижележащих горизонтах. Существует тенденция завышения значения ПОУ в засушливых районах и занижения в некоторых тропических почвах. Поэтому такая оценка является только приблизительной и реальное содержание органического углерода в почве необходимо всегда проверять в лаборатории.

Модифицировано	Пересмотр	Дата утверждения	Дата подтверждения
ГЛОСОЛАН СОП Тех. рабочей группой, Руководитель: Дж. Нило, Филиппины	3-е совещание ГЛОСОЛАН	3-е совещание ГЛОСОЛАН	27 октября 2019

Глобальная Сеть Почвенных Лабораторий ГЛОСОЛАН	ГЛОСОЛАН-СОП-02	
ОБЩИЙ УГЛЕРОД ПОЧВЫ Метод Уолкли-Блэка: Титриметрический и колориметрический методы	Номер версии: 1	Страница 4 из 19
	Дата вступления в действие: 28 октября 2019	

Примечание для целей классификации почв: (Продовольственная и сельскохозяйственная организация Объединенных Наций, 2006 г.)

* содержание органического углерода $\geq 0,6\%$ → горизонты моллик и умбрик.

* содержание органического углерода $\geq 1,5\%$ → горизонт вороник.

(Примечание: отношение ПОУ к ПОВ составляет примерно 1: 1,7–2,0).

В таких спорных ситуациях важно иметь качественные данные о содержании ПОУ. К счастью, методы определения ПОУ довольно просты для выполнения, но лаборатории почвенных анализов должны прилагать все усилия для обеспечения наилучшего качества данных. Это позволит отслеживать изменения содержания ПОУ в локальном и региональном масштабах, а также даст лучшее представление о будущих сценариях не только по содержанию ПОУ, но и по эмиссии CO_2 в атмосферу.

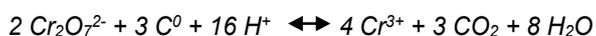
2. Сфера действия и область применения

Настоящий протокол применяется для определения содержания окисляемого органического углерода в почве. Содержание органического углерода рассчитывается по количеству образующегося иона хрома (Cr^{3+}), используя титриметрический или колориметрический метод. Присутствие хлорид-иона ($> 0,5\% \text{Cl}^-$) будет завышать результат в засоленных почвах. Ошибка, вызванная присутствием хлорида, при необходимости может быть скорректирована (Rayment and Lyons, 2011). Этот метод описан в Nelson and Sommers (1996). Метод испытания, описанный здесь, не включает поправку на хлорид-ион.

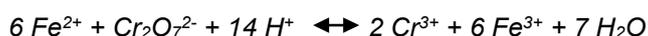
3. Принцип метода

Определение содержания органического углерода в почве основано на бихроматном методе мокрого озоления по Уолкли-Блэку (Walkley & Black). Окисляемый органический углерод в почве окисляется $0,167 \text{ M}$ раствором бихромата калия ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) в концентрированной серной кислоте. Теплота реакции обеспечивает температуру, достаточную для протекания процесса окисления.

Химическая реакция следующая:



Количество иона $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$, восстановленного во время реакции с почвой, эквивалентно количеству окисленного органического С, присутствующего в образце. Органический углерод затем оценивают, измеряя количество оставшегося избытка невосстановленного бихромата путем обратного титрования с сульфатом железа или сульфата железа с аммонием с использованием в качестве индикатора дифениламина или комплекса железа с фенантролином (о-фенантролин-железного комплекса).



Модифицировано	Пересмотр	Дата утверждения	Дата подтверждения
ГЛОСОЛАН СОП Тех. рабочей группой, Руководитель: Дж. Нило, Филиппины	3-е совещание ГЛОСОЛАН	3-е совещание ГЛОСОЛАН	27 октября 2019

Глобальная Сеть Почвенных Лабораторий ГЛОСОЛАН	ГЛОСОЛАН-СОП-02	
ОБЩИЙ УГЛЕРОД ПОЧВЫ Метод Уолкли-Блэка: Титриметрический и колориметрический методы	Номер версии: 1	Страница 5 из 19
	Дата вступления в действие: 28 октября 2019	

Альтернативно, содержание органического углерода можно рассчитать по количеству образовавшегося иона хрома (Cr^{3+}), используя колориметрический метод при поглощении на 588 нм (по Sims and Naby 1971). Преимущество этой процедуры перед титриметрическим методом состоит в том, что не требуется точная стандартизация раствора $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$.

Важные пояснения:

1. Выход органического углерода из почв в этом методе обычно составляет от 75 до 90% в поверхностных горизонтах и варьирует в зависимости от типа почвы и глубины. Уолкли и Блэк показали, что за счет нагревания реакционной смеси при ее разбавлении из почвы извлекается в среднем около 77% органического С, и предложили использовать поправочный коэффициент 1,3 для учета неизвлеченного органического С;
2. На результаты определения этим методом влияют некоторые почвенные компоненты, что может приводить к ошибочным результатам в некоторых почвах. Хлориды, двухвалентное железо и высшие оксиды Mn участвуют в окислительно-восстановительных реакциях в хромово-кислотной смеси, что приводит к неправильным значениям величин органического С. Наличие в почвенных образцах значительного количества Fe^{2+} или Cl^- приведет к завышению, а MnO_2 - к занижению значений содержания органического С. Добавление H_3PO_4 после охлаждения образца помогает устранить помехи от ионов железа (Fe^{3+}), которые могут присутствовать в образце. Влияние хлоридов может быть устранено путем промывки почвы от Cl^- перед анализом или осаждением Cl^- в виде AgCl путем добавления Ag_2SO_4 к озоляющей кислоте;
3. Для почв с очень высоким содержанием органического углерода метод *Walkley & Black* может привести к заниженным результатам из-за неполного окисления органического углерода в образце. Для образцов с очень высоким содержанием углерода следует использовать меньшие навески образца;
4. Этот метод предназначен для определения органического углерода в почвах. Он не применим к почвам, содержащим значительные количества карбонатов.

4. Оборудование

4.1. Для титриметрического метода

- 4.1.1. Аналитические весы с точностью 0,0001 г для приготовления реагентов
- 4.1.2. Прецизионные весы для навесок почвенных проб (Таблица 1).
- 4.1.3. Бюретка на 50 мл с ценой деления $\pm 0,02$ мл для раствора титранта
- 4.1.4. Объемная бюретка/дозатор 10,00 мл $\pm 0,01$ мл с известной погрешностью для использования с раствором бихромата калия

Модифицировано	Пересмотр	Дата утверждения	Дата подтверждения
ГЛОСОЛАН СОП Тех. рабочей группой, Руководитель: Дж. Нило, Филиппины	3-е совещание ГЛОСОЛАН	3-е совещание ГЛОСОЛАН	27 октября 2019

Глобальная Сеть Почвенных Лабораторий ГЛОСОЛАН	ГЛОСОЛАН-СОП-02	
ОБЩИЙ УГЛЕРОД ПОЧВЫ Метод Уолкли-Блэка: Титриметрический и колориметрический методы	Номер версии: 1	Страница 6 из 19
	Дата вступления в действие: 28 октября 2019	

- 4.1.5. Объемный дозатор, отрегулированный до 20,0 мл, для использования с концентрированной серной кислотой
- 4.1.6. Колбы Эрленмейера, 500 мл
- 4.1.7. Магнитная мешалка
- 4.1.8. Печь с возможностью нагрева до температуры 105°C
- 4.1.9. Мерные колбы; 1000 мл
- 4.1.10. Стеклянная палочка
- 4.1.11. Стаканы; 100 мл, 250 мл
- 4.1.12. Вытяжной шкаф / вентиляция
- 4.1.13. Бюретка и подставка

4.2. Для колориметрического метода

- 4.2.1. Аналитические весы с точностью 0,0001 г для приготовления реагентов
- 4.2.2. Спектрофотометр, подходящий для измерения поглощения на длине волны 600 нм
- 4.2.3. Центрифужные пробирки (выдерживающие нагревание ≥ 130 ° С) или стеклянные конические пробирки, вместимостью около 50-75 мл.
- 4.2.4. Дозирующие или объемные пипетки, 1 мл, 5 мл
- 4.2.5. Градуированные пипетки; 1 мл, 2 мл
- 4.2.6. Калиброванный дозатор; 2 мл, 5 мл, 10 мл
- 4.2.7. Стеклянная палочка
- 4.2.8. Мерные колбы; 100 мл, 500 мл
- 4.2.9. Стакан; 100 мл, 250 мл

5. Реактивы

5.1. Для титриметрического метода

- 5.1.1. **Деионизированная/дистиллированная вода, с удельной электропроводностью $EC < 1,5 \cdot 10^{-3}$ дС м⁻¹**
- 5.1.2. **Стандарт бихромата калия, 0,167 М (1,0 н.)**
Растворить 49,04 г $K_2Cr_2O_7$ квалификации хч или чда (предварительно высушенного при 105 ° С в течение 2 часов и охлажденного в эксикаторе до комнатной температуры) в деионизированной / дистиллированной воде и довести раствор до объема 1000 мл.
- 5.1.3. **Кислота серная концентрированная (не менее 96%) - для титрования и колориметрического метода**
Если в почве присутствует Cl^- , добавить к кислоте Ag_2SO_4 из расчета 15 г на литр.
- 5.1.4. **Фосфорная кислота, 85% (если используется индикатор дифениламин)**
Фосфорную кислоту добавляют для образования комплекса с мешающим железом (III), обеспечивая более резкое изменение цвета индикатора.

Модифицировано	Пересмотр	Дата утверждения	Дата подтверждения
ГЛОСОЛАН СОП Тех. рабочей группой, Руководитель: Дж. Нило, Филиппины	3-е совещание ГЛОСОЛАН	3-е совещание ГЛОСОЛАН	27 октября 2019

Глобальная Сеть Почвенных Лабораторий ГЛОСОЛАН	ГЛОСОЛАН-СОП-02	
ОБЩИЙ УГЛЕРОД ПОЧВЫ Метод Уолкли-Блэка: Титриметрический и колориметрический методы	Номер версии: 1	Страница 7 из 19
	Дата вступления в действие: 28 октября 2019	

5.1.5. Индикатор (можно выбрать 5.1.5.1 или 5.1.5.2)

5.1.5.1 Индикатор о-фенантролин - комплекс железа, 0,025 М

Растворить 1,485 г моногидрата о-фенантролина (аналитическая чистота) и 0,695 г гептагидрата сульфата железа ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) (аналитической чистоты) в деионизированной / дистиллированной воде. Довести раствор до объема 100 мл.

Комплекс железа с о-фенантролином также доступен под названием ферроин (Ferroin от G. Frederick Smith Chemical Co. (Columbus, Ohio)).

5.1.5.2 Индикатор бария дифениламинсульфонат, 0,16% водный раствор

5.1.6. Титрант (по выбору 5.1.6.1 или 5.1.6.2)

5.1.6.1 Раствор сульфата железа (FeSO_4), 0,5 М

Растворить 140г $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ аналитической чистоты в деионизированной/дистиллированной воде, добавить 15 мл концентрированной серной кислоты, охладить раствор и довести его до объема 1000 мл деионизированной/дистиллированной водой. Стандартизовать этот реагент ежедневно, титруя его против 10 мл 0,167 М (1 н.) бихромата калия.

5.1.6.2 Сульфат аммония железа, 0,5 М

Растворить 196 г $(\text{NH}_4)_2 \text{Fe} (\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ аналитической чистоты в 700 мл дистиллированной воды, добавить 20 мл концентрированной серной кислоты, охладить раствор и довести его до объема 1000 мл дистиллированной водой. Стандартизируйте этот реагент ежедневно, титруя его против 10 мл 0,167 М бихромата калия.

Примечание: Fe^{2+} в обоих растворах медленно окисляется под воздействием воздуха, поэтому его необходимо ежедневно стандартизировать по отношению к бихромату. Готовьте свежий раствор каждые 30 дней.

5.2. Для колориметрического метода

5.2.1. Деионизированная/дистиллированная вода, с удельной электропроводностью $\text{EC} < 1,5 \cdot 10^{-3} \text{ дС м}^{-1}$

Модифицировано	Пересмотр	Дата утверждения	Дата подтверждения
ГЛОСОЛАН СОП Тех. рабочей группой, Руководитель: Дж. Нило, Филиппины	3-е совещание ГЛОСОЛАН	3-е совещание ГЛОСОЛАН	27 октября 2019

Глобальная Сеть Почвенных Лабораторий ГЛОСОЛАН	ГЛОСОЛАН-СОП-02	
ОБЩИЙ УГЛЕРОД ПОЧВЫ Метод Уолкли-Блэка: Титриметрический и колориметрический методы	Номер версии: 1	Страница 8 из 19
	Дата вступления в действие: 28 октября 2019	

5.2.2. Калия бихромат, 10% (0.34 М)

Растворить 50.0 г $K_2Cr_2O_7$ квалификации хч или чда в 500 мл дистиллированной/деионизированной воды.

5.5.3 Стандартный раствор сахарозы, 4 мг С/мл

Навеску 0.95 г сахарозы (высушенной при 105 °С в течение 2 часов) растворить в 100 мл дистиллированной/деионизированной воды

6. Охрана здоровья и безопасность

Процедура предполагает использование опасных химических веществ. Перед работой ознакомьтесь с правилами по технике безопасности в лаборатории.

6.1. Безопасность персонала

При работе с химическими веществами необходимо надевать защитные очки, перчатки и лабораторные халаты.

6.2. Опасность химикатов

1. Бихромат калия является неорганическим соединением, которое при нагревании выделяет токсичные пары хрома. Бихромат калия обладает высокой коррозионной активностью и является сильным окислителем. Это вещество является канцерогеном и вызывает повышенный риск развития рака легких.
2. Серная кислота: хранить вдали от открытого огня / источников тепла. Регулярно измеряйте ее концентрацию в воздухе. Выполняйте все операции в вытяжном шкафу. Не сливайте отходы в канализацию. **Никогда не разбавляйте, наливая воду в кислоту, но всегда добавляйте кислоту в воду.**
3. Гигиена: после использования всех химических реагентов вымойте руки и другие открытые участки тела с помощью мягкого мыла и воды.
4. Все титрование и обращение с химикатами следует проводить в вытяжном шкафу.

Модифицировано	Пересмотр	Дата утверждения	Дата подтверждения
ГЛОСОЛАН СОП Тех. рабочей группой, Руководитель: Дж. Нило, Филиппины	3-е совещание ГЛОСОЛАН	3-е совещание ГЛОСОЛАН	27 октября 2019

Глобальная Сеть Почвенных Лабораторий ГЛОСОЛАН	ГЛОСОЛАН-СОП-02	
ОБЩИЙ УГЛЕРОД ПОЧВЫ Метод Уолкли-Блэка: Титриметрический и колориметрический методы	Номер версии: 1	Страница 9 из 19
	Дата вступления в действие: 28 октября 2019	

7. Пробоподготовка

Воздушно-сухие почвенные образцы просеять через сито с отверстиями ≤ 2.0 мм.

8. Ход анализа

8.1. Титриметрический метод

- 8.1.1. Навеску 1,0 г воздушно-сухой почвы (при необходимости навеску скорректировать согласно Таблице 1) поместить в коническую колбу на 500 мл.
- 8.1.2. Добавить 10 мл 0,167 М $K_2Cr_2O_7$ и осторожно взболтать до равномерного распределения почвенной суспензии.
- 8.1.3. Соблюдая осторожность, быстро добавить 20 мл концентрированной H_2SO_4 , направляя струю в суспензию.
- 8.1.4. Немедленно осторожно взболтать колбу до равномерного перемешивания реагентов, затем продолжать более энергичное взбалтывание в течение 1 минуты.
- 8.1.5. Для снижения теплотери оставить колбу на 30 мин в вытяжном шкафу на термоизоляционном покрытии.
- 8.1.6. Добавить в колбу 200 мл воды.

Примечание: Если опыт показывает, что конечная точка титрования определяется нечетко, суспензию можно отфильтровать через кислотоустойчивый бумажный фильтр (например, Ватман № 540).

- 8.1.7. Добавить 10 мл 85% H_3PO_4 (если используется индикатор дифениламин бария сульфат)
- 8.1.8. Добавить 3-4 капли индикатора (комплекс железа с о-фенантролином или дифениламин бария сульфат) и титровать раствором 0,5 М $FeSO_4$ или 0,5 М $(NH_4)_2 Fe(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$

8.1.9. Определение конечной точки титрования,

8.1.9.1. **Титрование с о-фенантролином:** раствор приобретает зеленоватый оттенок и затем становится темно-зеленым. В этот момент по каплям добавляйте титрант (гептагидрат сульфата двухвалентного железа), пока цвет резко не изменится на красный (в отраженном свете на белом фоне бордовый цвет).

8.1.9.2. **Титрование с дифениламином:** вблизи конечной точки титрования цвет меняется на темно-фиолетовый; замедлите

Модифицировано	Пересмотр	Дата утверждения	Дата подтверждения
ГЛОСОЛАН СОП Тех. рабочей группой, Руководитель: Дж. Нило, Филиппины	3-е совещание ГЛОСОЛАН	3-е совещание ГЛОСОЛАН	27 октября 2019

Глобальная Сеть Почвенных Лабораторий ГЛОСОЛАН	ГЛОСОЛАН-СОП-02	
ОБЩИЙ УГЛЕРОД ПОЧВЫ Метод Уолкли-Блэка: Титриметрический и колориметрический методы	Номер версии: 1	Страница 10 из 19
	Дата вступления в действие: 28 октября 2019	

титрование, добавляя по каплям сульфат железа (2). В конечной точке цвет резко меняется на ярко-зеленый.

Таким же образом оттитровать 1-3 холостые пробы (без почвы), чтобы стандартизовать $K_2Cr_2O_7$.

- 8.1.10 Рассчитать содержание органического углерода (%ОС), как указано в разделе 9.1. и представить результаты на абсолютно-сухую массу с двумя знаками после запятой.

Таблица 1. Рекомендуемая масса навески для анализа

Навеска, г	ОС, %	Цвет почвы
0.1	>2	Черный, темно-серый, темно-коричневый
0.25	≤2	Коричневый – темно-коричневый, серый – темно-серый
0.5	<0.6	Коричневый

Примечание: Вышеприведенные массы навесок в зависимости от цвета почвы являются ориентировочными. Процент ОС может варьировать в зависимости от типа цвета почвы. Как правило, почвы темного цвета, которые описываются как темно-коричневые или черные, имеют более высокое содержание углерода и азота, чем почвы более светлого цвета.

Ручное потенциметрическое титрование

1. Установите расширенную шкалу на рН-метр/милливольтметр с платиновым электродом и каломельным электродом сравнения, чтобы получить величины E (мВ). Погрузите электроды и температурный компенсатор в раствор и перемешайте магнитной мешалкой. Вместо конических колб можно использовать высокие стаканы, предоставляя больше места для электродов, температурного компенсатора и бюретки.
2. Используя одно из неизвестных, построите кривую титрования, записав значения измеренного E (мВ) и мл титранта (0.5 M $FeSO_4$ или 0.5 M $(NH_4)_2 Fe(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$), добавленного из бюретки. Конечную точку затем находят в точке перегиба на кривой (приблизительно 750 мВ). После достижения этой точки титрование прекращают и измеряют соответствующий расход титранта. Если было израсходовано более 8 мл из 10 мл бихромата, определение необходимо повторить с меньшей навеской почвы.

Модифицировано	Пересмотр	Дата утверждения	Дата подтверждения
ГЛОСОЛАН СОП Тех. рабочей группой, Руководитель: Дж. Нило, Филиппины	3-е совещание ГЛОСОЛАН	3-е совещание ГЛОСОЛАН	27 октября 2019

Глобальная Сеть Почвенных Лабораторий ГЛОСОЛАН	ГЛОСОЛАН-СОП-02	
ОБЩИЙ УГЛЕРОД ПОЧВЫ Метод Уолкли-Блэка: Титриметрический и колориметрический методы	Номер версии: 1	Страница 11 из 19
	Дата вступления в действие: 28 октября 2019	

Автоматическое потенциометрическое титрование

Используйте автоматический титратор, подсоединив платиновый электрод к клемме мВ и каломелевый электрод сравнения к клемме стеклянного электрода. Используйте автобюретки на 25 мл для титранта 0,5М FeSO₄ или 0.5 М (NH₄)₂ Fe(SO₄)₂·6H₂O.

Титрование осуществляется путем предварительного построения кривой титрования, как описано выше, а затем автоматического титрования до конечной точки (приблизительно 750 мВ), определенной в точке перегиба кривой. Настройки титратора должны соответствовать руководству по эксплуатации.

Если было израсходовано более 8 мл из 10 мл бихромата, определение необходимо повторить с меньшей навеской почвы.

8.2. Колориметрический метод

8.2.1. Подготовка калибровочного графика

- 8.2.1.1. В центрифужных пробирках приготовить серию стандартных растворов сахарозы (0-8 мг С) как указано в таблице 2. Объемы стандартного раствора сахарозы и деионизированной/дистиллированной воды соответствуют количеству органического углерода в растворах.
- 8.2.1.2. В каждую пробирку добавить 2 мл 10% K₂Cr₂O₇ (0.34 М) и перемешать.
- 8.2.1.3. Добавить 5,0 мл H₂SO₄, охладить и оставить стоять 30 минут.
- 8.2.1.4. Добавить в пробирку 18,0 мл деионизированной/дистиллированной воды.

Таблица 2. Стандартные растворы

Масса ОС, (мг)	Стандартный раствор сахарозы (4мг С/мл), мл	H ₂ O (мл)
0	0.00	2.00
1	0.25	1.75
2	0.50	1.50
3	0.75	1.25
4	1.00	1.00
5	1.25	0.75
6	1.50	0.50
7	1.75	0.25
8	2.00	0.00

Модифицировано	Пересмотр	Дата утверждения	Дата подтверждения
ГЛОСОЛАН СОП Тех. рабочей группой, Руководитель: Дж. Нило, Филиппины	3-е совещание ГЛОСОЛАН	3-е совещание ГЛОСОЛАН	27 октября 2019

Глобальная Сеть Почвенных Лабораторий ГЛОСОЛАН	ГЛОСОЛАН-СОП-02	
ОБЩИЙ УГЛЕРОД ПОЧВЫ Метод Уолкли-Блэка: Титриметрический и колориметрический методы	Номер версии: 1	Страница 12 из 19
	Дата вступления в действие: 28 октября 2019	

8.2.2. Подготовка проб

- 8.2.2.1. Взять навески почв по 0,5 г (или в соответствии с таблицей 1).
8.2.2.2. Добавить 2,0 мл 10% (0.34 М) раствора $K_2Cr_2O_7$ и перемешать.
8.2.2.3. Добавить 5,0 мл H_2SO_4 , охладить и оставить на 30 минут.
8.2.2.4. Добавить в пробирку 20,0 мл воды. Перемешать и оставить на ночь.

8.2.3. Измерения

Измерить поглощение калибровочных стандартных растворов и почвенных проб на спектрофотометре на длине волны 600 нм.

Если коэффициент корреляции калибровочной кривой равен или больше 0,9990, приступают к анализу образцов. В противном случае убедитесь, что стандарты и реагенты были правильно подготовлены, прибор функционирует должным образом и настройка прибора выполнена правильно. Примите меры по устранению неисправностей и занесите в журнал соответствующие записи.

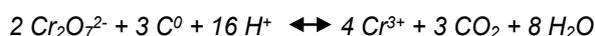
8.2.4 Написание отчета

Рассчитайте содержание процента ОС как указано в пункте 9.2 и представьте результаты на абсолютно-сухую массу с двумя знаками после запятой.

9. Расчеты

9.1. Титриметрический метод

Согласно уравнению:



1 мл 1 Н раствора бихромата эквивалентен 3 мл углерода

После реакции избыток $Cr_2O_7^{2-}$ титруется 0.5 М раствором $FeSO_4$ или 0.5 М $(NH_4)_2 Fe(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$



$$\text{Органический C, \%} = \frac{(V_{blank} - V_{sample}) \times M_{Fe^{2+}} \times 0.003 \times 100 \times f \times mcf}{W}$$

Модифицировано	Пересмотр	Дата утверждения	Дата подтверждения
ГЛОСОЛАН СОП Тех. рабочей группой, Руководитель: Дж. Нило, Филиппины	3-е совещание ГЛОСОЛАН	3-е совещание ГЛОСОЛАН	27 октября 2019

Глобальная Сеть Почвенных Лабораторий ГЛОСОЛАН	ГЛОСОЛАН-СОП-02	
ОБЩИЙ УГЛЕРОД ПОЧВЫ Метод Уолкли-Блэка: Титриметрический и колориметрический методы	Номер версии: 1	Страница 13 из 19
	Дата вступления в действие: 28 октября 2019	

где:

V_{blank} = объем, пошедший на титрование холостого раствора, мл

V_{sample} = объем, пошедший на титрование пробы, мл

$M_{Fe^{2+}}$ = точная концентрация раствора $FeSO_4$ или $(NH_4)_2Fe(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$, моль/л

0.003 = эквивалент углерода (см ниже)

$$= \frac{12 \text{ g C}}{\text{mole}} \times \frac{1 \text{ mole } K_2Cr_2O_7}{6 \text{ moles } FeSO_4} \times \frac{3 \text{ moles C}}{2 \text{ moles } K_2Cr_2O_7} \times \frac{1 \text{ L}}{1000 \text{ mL}}$$

f = коэффициент пересчета, 1,3

W = масса навески почвы, г

mcf = пересчет на абсолютно-сухую массу (см-Протокол на определение влажности почвы (SOP for Moisture Content))

Примечание: Коэффициент 1,3 вводят для поправки на неполноту окисления ПОВ, поскольку в среднем этим способом извлекается только около 77% органического углерода. Однако следует учитывать, что значение этого фактора очень изменчиво, поскольку оно обусловлено типом почвы и природой органического вещества.

9.2. Колориметрический метод

$$\% OC = \frac{mgC_{sample} - mgC_{blank}}{w, mg} \times f \times mcf \times 100$$

где:

% OC = содержание органического углерода в почве, %

mg C_{sample} = Концентрация углерода в пробе

mg C_{blank} = Концентрация углерода в холостом растворе

W = Навеска воздушно-сухой пробы, мг

f = Коэффициент пересчета, 1,3

mcf = пересчет на абсолютно-сухую массу (см Протокол на определение влажности почвы (SOP for Moisture Content))

10. Обеспечение качества/контроль качества

10.1. Проверка достоверности измерений

10.1.1. Участвуйте в межлабораторных аттестационных испытаниях не реже одного раза в год. Z-оценка аттестационных испытаний должна быть меньше 2. Если это не так, определите основную причину,

Модифицировано	Пересмотр	Дата утверждения	Дата подтверждения
ГЛОСОЛАН СОП Тех. рабочей группой, Руководитель: Дж. Нило, Филиппины	3-е совещание ГЛОСОЛАН	3-е совещание ГЛОСОЛАН	27 октября 2019

Глобальная Сеть Почвенных Лабораторий ГЛОСОЛАН	ГЛОСОЛАН-СОП-02	
ОБЩИЙ УГЛЕРОД ПОЧВЫ Метод Уолкли-Блэка: Титриметрический и колориметрический методы	Номер версии: 1	Страница 14 из 19
	Дата вступления в действие: 28 октября 2019	

разработайте корректирующие и предупреждающие действия и устраните проблему.

- 10.1.2. Выполните повторный анализ сертифицированного эталонного материала (СЭМ). Сравните результаты своей лаборатории с результатами других лабораторий, указанных в отчете об анализе эффективности или сертификате СЭМ. Результат собственной лаборатории считается точным, если он попадает в указанный 95% доверительный интервал целевого значения.

10.2. Проверка точности метода (сходимости результатов)

Выполните повторный анализ 10% образцов в тестовой партии. Рассчитайте процентное относительное стандартное отклонение (% RSD), чтобы определить точность повторного анализа в рамках спецификации. Сравните результат с целевой точностью для концентрации аналита (Таблица 3)

$$\% RSD = \frac{s}{\bar{x}} \times 100$$

Где: s = стандартное отклонение для повторностей
 \bar{x} = среднее

Таблица 3. Ожидаемая точность (повторяемость) в зависимости от концентрации аналита

Analyte, %	Analyte ratio	Unit	RSD, %
100	1	100%	1.3
10	10 ⁻¹	10%	1.9
1	10 ⁻²	1%	2.7
0.01	10 ⁻³	0.1%	3.7
0.001	10 ⁻⁴	100 ppm (mg/kg)	5.3
0.0001	10 ⁻⁵	10 ppm (mg/kg)	7.3
0.00001	10 ⁻⁶	1 ppm (mg/kg)	11
0.000001	10 ⁻⁷	100 ppb (µg/kg)	15
0.0000001	10 ⁻⁸	10 ppb (µg/kg)	21
0.00000001	10 ⁻⁹	1 ppb (µg/kg)	30

Модифицировано	Пересмотр	Дата утверждения	Дата подтверждения
ГЛОСОЛАН СОП Тех. рабочей группой, Руководитель: Дж. Нило, Филиппины	3-е совещание ГЛОСОЛАН	3-е совещание ГЛОСОЛАН	27 октября 2019

Глобальная Сеть Почвенных Лабораторий ГЛОСОЛАН	ГЛОСОЛАН-СОП-02	
ОБЩИЙ УГЛЕРОД ПОЧВЫ Метод Уолкли-Блэка: Титриметрический и колориметрический методы	Номер версии: 1	Страница 15 из 19
	Дата вступления в действие: 28 октября 2019	

Источник: AOAC Peer Verified Methods Program. Manual on Policies and Procedures (1998). AOAC International Gathersburg. MD.

10.3. Протокол проверки

Проанализируйте не менее двух проб стандартных образцов или внутреннего эталонного материала для каждой партии анализа. Нанесите результат на контрольную диаграмму. Контролируйте выход за заданные пределы. Если наблюдается превышение указанного предела, определите причину, разработайте корректирующие и предупреждающие действия.

11. Справочные документы

- AOAC.** 1998. *AOAC Peer Verified Methods Program. Manual on Policies and Procedures.* AOAC International Gathersburg. MD.
- B. Magnusson & U. Ornemark.** 2014. *Eurachem Guide: The fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics.*
- Bowman, R.A.** 1998. *A Re-evaluation of the Chromic Acid Colorimetric Procedure for Soil Organic Carbon. Commun. Soil Sci. Plant Anal.,* 29(3&4): 501-508.
- Brown, P.E. & O'Neal, A.M.** 1923. *The Color of Soils in Relation to Organic Matter Content.* Research Bulletin No. 75. Retrieved from Agricultural Research Bulletin-v005-b075.pdf.
- Food and Agriculture Organization.** 2006. *Guidelines for soils description. Fourth edition.* Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy.
- Garfield, F.M.** 1991. *Quality Assurance Principles for Analytical Laboratories.* AOAC INTERNATIONAL
- Nelson, D.W. & Sommers, L.E.** 1996. *Total Carbon, Organic Carbon and Organic Matter.* In D.L. Sparks (Ed.), *Soil Science Society of America, Book Series 5. Methods of Soil Analysis Part 3, Chemical Methods.* Madison, Wisconsin: Soil Science Society of America, Inc.
- Rayment, G.E. & Lyons, D.J.** 2011. *Soil Chemical Methods - Australasia.* CSIRO publishing, Australia
- Sims, J. & Haby, V.** 1971. Simplified Colorimetric Determination of Soil Organic Carbon Matter. *Soil Science,* 112(2): 137-141
- Walkley, A. & Black I.A.,** 1934. An examination of the Degtjareff Method for Determining Soil Organic Matter, and a proposed Modification of the Chromic Acid Titration Method. *Soil Science,* 37(1): 29-38

Модифицировано	Пересмотр	Дата утверждения	Дата подтверждения
ГЛОСОЛАН СОП Тех. рабочей группой, Руководитель: Дж. Нило, Филиппины	3-е совещание ГЛОСОЛАН	3-е совещание ГЛОСОЛАН	27 октября 2019

Глобальная Сеть Почвенных Лабораторий ГЛОСОЛАН	ГЛОСОЛАН-СОП-02	
ОБЩИЙ УГЛЕРОД ПОЧВЫ Метод Уолкли-Блэка: Титриметрический и колориметрический методы	Номер версии: 1	Страница 16 из 19
	Дата вступления в действие: 28 октября 2019	

Walkley, A. 1947. A Critical Examination of a Rapid Method for Determining Organic Carbon in Soils – Effect of Variations in Digestion Conditions and of Inorganic Soil Constituents. *Soil Science*, 63(4): 251-264

12. Приложение I. Благодарности

ГЛОСОЛАН благодарит Азиатскую сеть почвенных лабораторий СЕАЛНЕТ (Asian Soil Laboratory Network, SEALNET), Латиноамериканскую сеть почвенных лабораторий ЛАТСОЛАН (Latin American Soil Laboratory Network, LATSOLAN) и президента ГЛОСОЛАН госпожу Нопмани Суваннанг за подготовку первой редакции этого Протокола. ГЛОСОЛАН также благодарит региональные сети почвенных лабораторий (СЕАЛНЕТ, ЛАТСОЛАН, АФРИЛАБ и ЕВРОСОЛАН) за обсуждение и рецензирование этого Протокола на своих ежегодных совещаниях, а также участников 3^{го} совещания ГЛОСОЛАН (28-30 октября 2019), ГЛОСОЛАН благодарит также к.б.н. О.С.Якименко (факультет почвоведения МГУ имени М.В.Ломоносова) за перевод Протокола на русский язык.

13. Приложение II. Список авторов

Основные авторы (в алфавитном порядке):

- Бергил Дж. Бернальдо, Отдел лабораторных услуг Бюро по управлению почвами и водными ресурсами, **Филиппины** (Mr. Bergil G. Bernaldo, Bureau of Soils And Water Management Laboratory Services Division, Philippines)
- Флория Бертч, CIA-UCR, **Коста-Рика** (Ms. Floria Bertsch, CIA-UCR, Costa Rica)
- Джина П. Нило, Отдел лабораторных услуг Бюро управления почвенными и водными ресурсами, **Филиппины** (Ms. Gina P. Nilo, Bureau of Soils And Water Management Laboratory Services Division, Philippines)
- Нопманее Суваннанг, председатель ГЛОСОЛАН, **Таиланд** (Ms. Nopmanee Suvannang)
- Роб Де Хайр, Департамент окружающей среды и науки, Отдел науки, Химический центр, **Австралия** (Mr. Rob De Hayr, Department of Environment and Science, Science Division, Chemistry Centre, Australia)

14. Приложение III. Лаборатории-участники

ГЛОСОЛАН благодарит следующие лаборатории за заполнение форм ГЛОСОЛАНА и предоставление информации о своих стандартных протоколах анализа по методу Уолкли-Блэка (титриметрический и колориметрический методы), которые были использованы в качестве исходных данных для проведения глобальной гармонизации:

Модифицировано	Пересмотр	Дата утверждения	Дата подтверждения
ГЛОСОЛАН СОП Тех. рабочей группой, Руководитель: Дж. Нило, Филиппины	3-е совещание ГЛОСОЛАН	3-е совещание ГЛОСОЛАН	27 октября 2019

Глобальная Сеть Почвенных Лабораторий ГЛОСОЛАН	ГЛОСОЛАН-СОП-02	
ОБЩИЙ УГЛЕРОД ПОЧВЫ Метод Уолкли-Блэка: Титриметрический и колориметрический методы	Номер версии: 1	Страница 17 из 19
	Дата вступления в действие: 28 октября 2019	

Из азиатского региона:

- ICRISAT, **Индия**
- ICAR-Индийский институт почвоведения, **Индия**
- Департамент управления земельными ресурсами в сельском хозяйстве (DALaM), **Лаос**
- Департамент сельскохозяйственных исследований (DAR), **Мьянма**
- Fertilizer Company Limited, **Пакистан**
- Департамент наук о почве и окружающей среде, Сельскохозяйственный университет, Пешавар, **Пакистан**
- Бюро управления почвенными и водными ресурсами, **Филиппины**
- Региональный полевой офис DA, Региональная почвенная лаборатория 3-ILD, **Филиппины**
- Научно-исследовательский институт садоводства, департамент сельского хозяйства, **Шри-Ланка**
- Кафедра технологии растениеводства, Факультет сельскохозяйственных технологий, Технологический институт короля Монкута, Ладкрабанг, **Таиланд**
- Техническая группа почвенных анализов, управление развития земель, департамент землеустройства, **Таиланд**

Из Тихоокеанского региона:

- Лаборатория сельскохозяйственной химии, **Фиджи**
- Южнотихоокеанский университет, кампус Алафуа, **Самоа**

Из региона Ближнего Востока и северной Африки:

- Исследовательский институт почвы и воды, **Иран**
- Министерство науки и технологий, Управление сельскохозяйственных исследований, Центр почвенных и водных ресурсов, Департамент химии почв и опустынивания, **Ирак**
- Управление сельскохозяйственных исследований и распространения знаний, Центр исследований возобновляемых природных ресурсов, **Йемен**

Из Африканского региона:

- Аналитическая лаборатория почв и растений, **Ботсвана**
- Институт сельскохозяйственных исследований в целях развития, **Камерун**
- Национальная лаборатория диагностики и контроля качества сельскохозяйственных продуктов и материалов, **Камерун**
- LASEP / ITRAD, **Чад**

Модифицировано	Пересмотр	Дата утверждения	Дата подтверждения
ГЛОСОЛАН СОП Тех. рабочей группой, Руководитель: Дж. Нило, Филиппины	3-е совещание ГЛОСОЛАН	3-е совещание ГЛОСОЛАН	27 октября 2019

Глобальная Сеть Почвенных Лабораторий ГЛОСОЛАН	ГЛОСОЛАН-СОП-02	
ОБЩИЙ УГЛЕРОД ПОЧВЫ Метод Уолкли-Блэка: Титриметрический и колориметрический методы	Номер версии: 1	Страница 18 из 19
	Дата вступления в действие: 28 октября 2019	

- Национальный центр тестирования почвы (NSTC), **Эфиопия**
- CSIR-Институт почвенных исследований, **Гана**
- Университет Замбии, **Замбия**
- Почвенные лаборатории КАПРО, Кабете, **Кения**
- Университет Элдорет, **Кения**
- Департамент сельскохозяйственных исследований, **Лесото**
- Лаборатория радиоизотопов, **Мадагаскар**
- Департамент сельскохозяйственных исследований, Станция сельскохозяйственных исследований Читедзе, **Малави**
- Сельскохозяйственные и инженерные услуги (FES), **Малави**
- Университет сельского хозяйства и природных ресурсов Лилонгве, **Малави**
- Департамент сельскохозяйственных исследований, Станция сельскохозяйственных исследований Читедзе, **Малави**
- IIAM / CZnd / Нампула, **Мозамбик**
- Национальный институт агрономических исследований Нигера (INRAN), **Нигер**
- Нигерийский институт почвоведения (NISS), Национальная справочная лаборатория почв и удобрений Кадуна, **Нигерия**
- Международный институт тропического сельского хозяйства, **Нигерия**
- RAB, **Руанда**
- IRD, **Сенегал**
- Танзанийский институт сельскохозяйственных исследований (ТАРИ) - Млингано, **Объединенная Республика Танзания**
- Тоголезский институт агрономических исследований, **Того**
- Замбийский научно-исследовательский институт сельского хозяйства, **Замбия**
- Факультет почвоведения и сельского хозяйства, Университет Зимбабве, **Зимбабве**
- Экспериментальная станция сахарной ассоциации Зимбабве, **Зимбабве**
- Химико-почвенный научно-исследовательский институт, **Зимбабве**

Из европейского региона:

- Институт почвоведения, агротехнологии и защиты растений, кафедра агрохимии, агроэкологии и обработки почвы, **Болгария**
- Загребский университет, сельскохозяйственный факультет, кафедра общей агрономии, **Хорватия**
- SYNLAB Analytics & Services GmbH, **Германия**
- Некоммерческий центр безопасности пищевых продуктов, Лаборатория почвенной консервации, Веленце, **Венгрия**
- Косовский сельскохозяйственный институт, **Косово***

**References to Kosovo shall be understood to be in the context of Security Council Resolution 1244 (1999).*

Модифицировано	Пересмотр	Дата утверждения	Дата подтверждения
ГЛОСОЛАН СОП Тех. рабочей группой, Руководитель: Дж. Нило, Филиппины	3-е совещание ГЛОСОЛАН	3-е совещание ГЛОСОЛАН	27 октября 2019

Глобальная Сеть Почвенных Лабораторий ГЛОСОЛАН	ГЛОСОЛАН-СОП-02	
ОБЩИЙ УГЛЕРОД ПОЧВЫ Метод Уолкли-Блэка: Титриметрический и колориметрический методы	Номер версии: 1	Страница 19 из 19
	Дата вступления в действие: 28 октября 2019	

- Лаборатория лесной среды Латвийского государственного научно-исследовательского института леса "Силава", **Латвия**
- Почвенно-химико-биологическая лаборатория, **Нидерланды**
- Политехнический институт Кастело Бранко, факультет сельского хозяйства, **Португалия**
- Национальный институт сельского хозяйства и ветеринарии (INIAV), **Португалия**
- INCDPAPM - ICRA Лаборатория физико-химического анализа, Бухарест, **Румыния**
- Лаборатория почв и удобрений департамента почвоведения и питания растений (SOFLER-TR), Университет Анкары, Факультет сельского хозяйства, кафедра почвоведения и питания растений, **Турция**
- Центральный научно-исследовательский институт почвенных удобрений и водных ресурсов, **Турция**
- Лаборатория экологических исследований, **Соединенное Королевство Великобритании и Северной Ирландии**

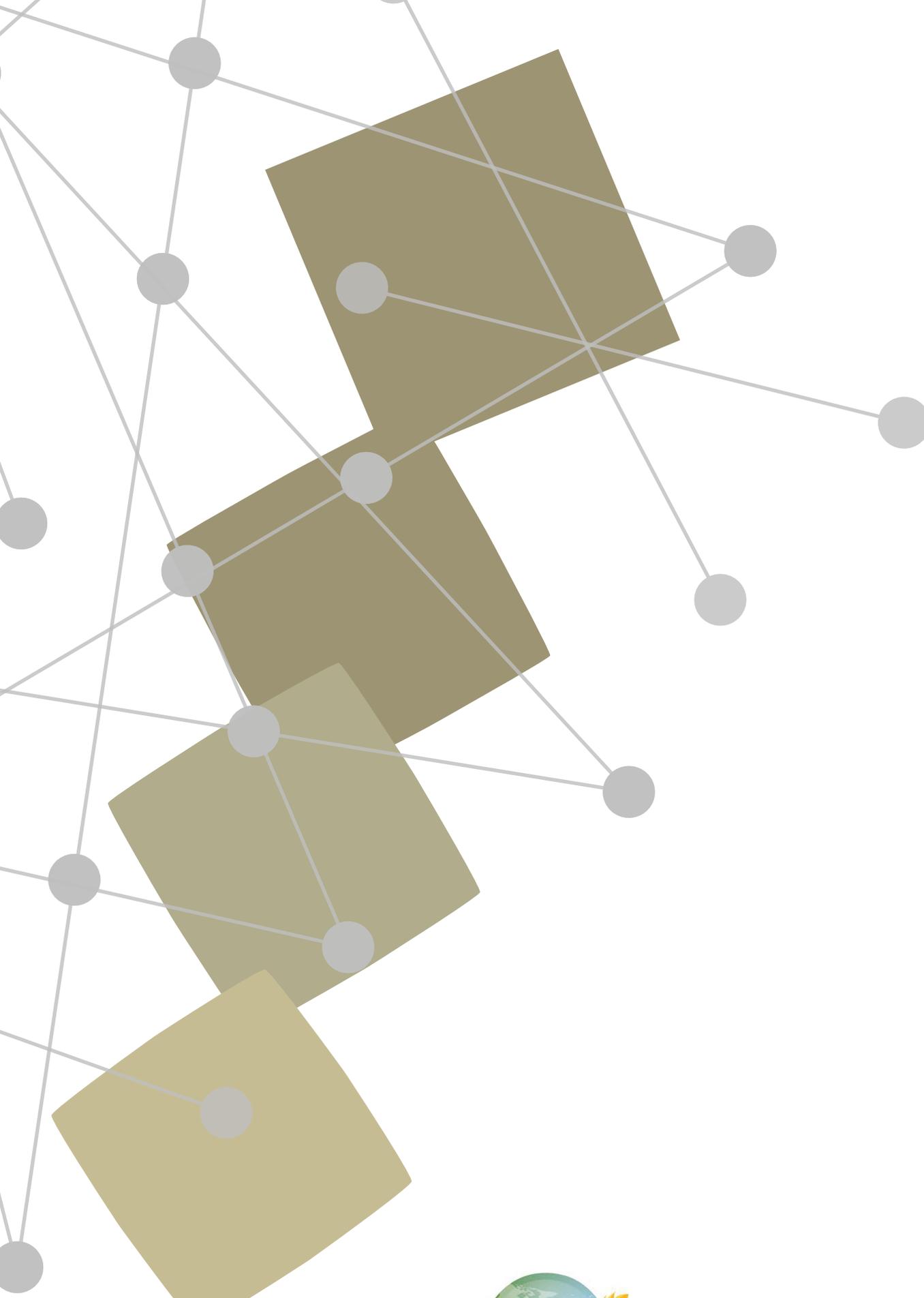
Из Евразийского региона:

- Лаборатория почвенно-агрохимических анализов, **Казахстан**
- Факультет почвоведения МГУ имени М.В.Ломоносова, **Российская Федерация**
- Институт Биологии Коми Научного Центра Уральского Отделения РАН, **Российская Федерация**

Из Латинской Америки:

- Национальный институт сельскохозяйственных исследований, Национальный исследовательский центр сельского хозяйства: INIA-CENIAP, **Боливия (Многонациональное Государство)**
- INTA (Национальный институт сельскохозяйственных технологий) - Почвенный институт - Лаборатория, **Бразилия**
- Химическая лаборатория почв и растений, Университет Концепсона, **Чили**
- Отдел управления сельскохозяйственными землями, Лаборатория здоровья почв, растений и вод, **Ямайка**
- ЭКОСУР, **Мексика**
- Лаборатория почвенного плодородия Панамского института сельскохозяйственных исследований (IDIAP), **Панама**
- Лаборатория почвы и воды, Главное управление природных ресурсов - Министерство животноводства, сельского хозяйства и рыболовства (DGRN-MGAR), **Уругвай**
- Национальный институт сельскохозяйственных исследований. Национальный центр сельскохозяйственных исследований: INIA-CENIAP, **Венесуэла**

Модифицировано	Пересмотр	Дата утверждения	Дата подтверждения
ГЛОСОЛАН СОП Тех. рабочей группой, Руководитель: Дж. Нило, Филиппины	3-е совещание ГЛОСОЛАН	3-е совещание ГЛОСОЛАН	27 октября 2019



Глобальное почвенное
партнерство



Некоторые права защищены. Лицензия С указанием авторства – Некоммерческая -
С сохранением условий 3.0 Межправительственная организация (CC BY-NC-SA 3.0 IGO)