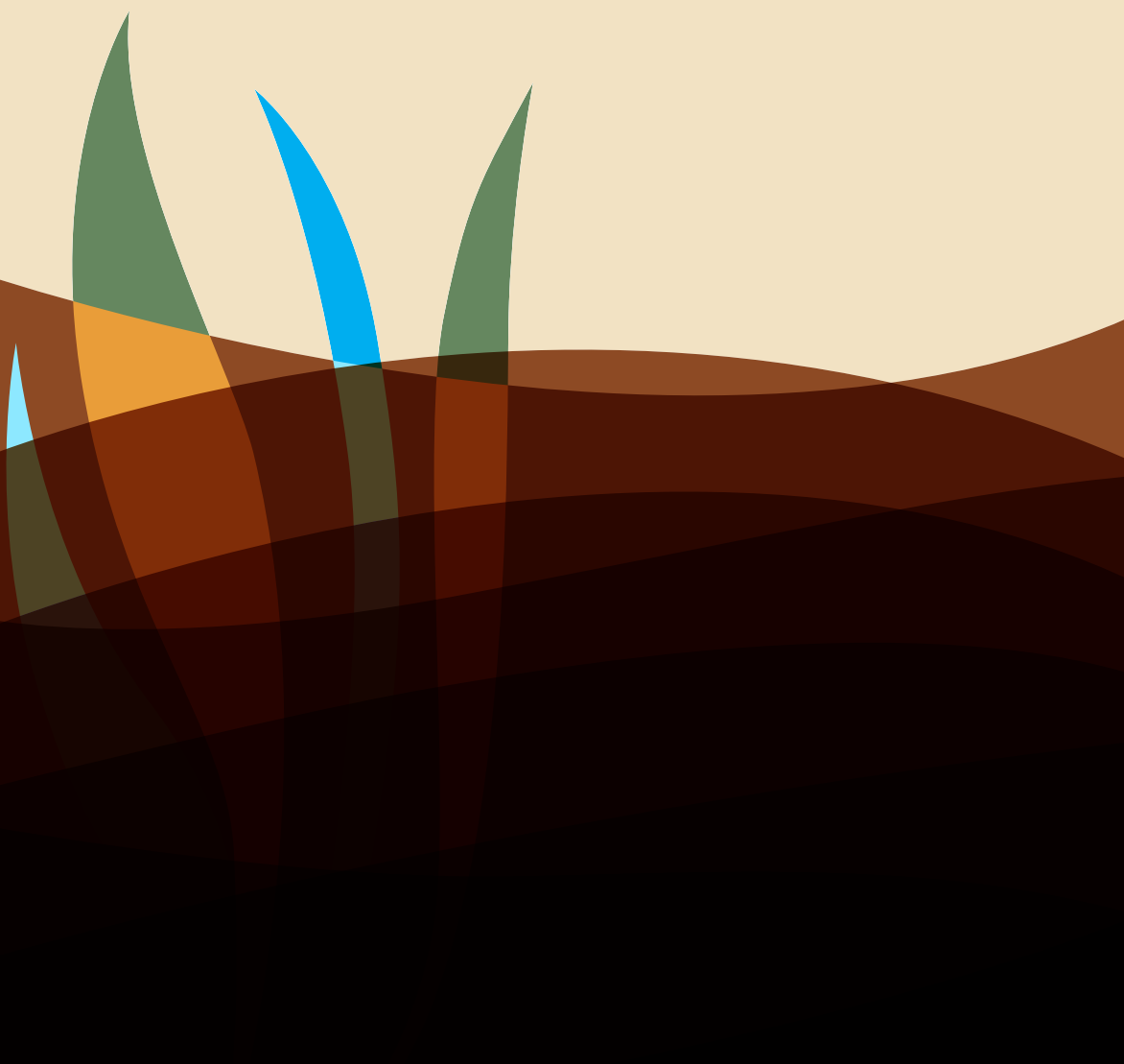


# ACTA CARPATHICA 14



Acta Carpathica  
14



Jan Gąsior, Janina Kaniuczak, Edmund Hajduk, Stanisław Właśniewski,  
Małgorzata Nazarkiewicz

Metody badań  
fizyko-chemicznych  
właściwości gleb

Rzeszów 2014

Publikacja dofinansowana ze środków UE w ramach projektu  
„Integracja środowisk naukowych obszaru pogranicza Polsko-Ukraińskiego”  
i grantu MNiSzW, decyzja nr 3029/PBU/0755/11/13/2014/2.

Jej treść nie odzwierciedla poglądów UE,  
a odpowiedzialność za zawartość ponosi Uniwersytet w Rzeszowie.

Redaktor: Jan Gąsior  
Swietłana J. Wołoszańska  
Bernadeta Alvarez  
Weronika Janowska-Kurdziel  
Dorota Grabek-Lejko  
Witalij Fil  
Wasył Stachiw

Opracowanie redakcyjne i korekta: Zespół Projektowy

Projekt okładki: Piotr Wisłocki

Wydawca: Katedra Gleboznawstwa, Chemii Środowiska i Hydrologii  
Wydział Biologiczno-Rolniczy Uniwersytetu Rzeszowskiego  
ul. M. Źwiklińskiej 2  
35-601 Rzeszów  
Polska

wspólnie z Wydawnictwem Uniwersytetu Pedagogicznego w Drohobyczu  
Wydział Biologiczny  
ul. I. Franka 24  
82-100 Drohobycz  
Ukraina

ISBN 978-83-7667-162-8

ISBN 978-966-384-302-5

Skład, łamanie, druk i oprawa: Mitel, ul. Baczyńskiego 9  
35-210 Rzeszów

Nakład 40 egz.

## SPIS TREŚCI

I. Oznaczanie zdolności sorpcyjnych gleby .....	7
1. Oznaczanie sumy zasadowych wymiennych (S) według Kappena .....	11
2. Oznaczanie kationów wymiennych o charakterze zasadowym przy użyciu roztworu octanu amonu .....	12
3. Oznaczanie kationów wymiennych w glebach zasadowych przy użyciu roztworu chlorku amonu .....	15
II. Oznaczanie odczynu i kwasowości gleby .....	17
1. Oznaczanie odczynu gleby w warunkach polowych .....	19
2. Oznaczanie odczynu gleby metodą potencjometryczną w warunkach laboratoryjnych .....	20
3. Oznaczanie kwasowości czynnej .....	22
4. Oznaczanie kwasowości wymiennej metodą Daikuhary .....	23
5. Oznaczanie kwasowości wymiennej metodą Sokołowa .....	23
6. Oznaczanie kwasowości hydrolitycznej metodą Kappena .....	24
7. Obliczanie dawki nawozu wapniowego, potrzebnej do odkwaszenia gleby – na podstawie oznaczonej Hh .....	25
III. Oznaczanie różnych frakcji składników pokarmowych w glebie .....	26
1. Oznaczanie przyswajalnych form fosforu i potasu metodą Egnera-Riehma .....	28
2. Oznaczanie przyswajalnego magnezu w glebie metodą Schachtschabela .....	31
3. Oznaczanie wybranych frakcji składników metodą Tessiera i BCR .....	34
4. Oznaczanie zawartości form rozpuszczalnych w 1 mol HCl·dm <sup>-3</sup> – roztwór Rinkisa mikropierwiastków (według procedury IUNG i Stacji Chemiczno-Rolniczych) .....	35
IV. Oznaczanie składu chemicznego wody glebowej .....	37
1. Oznaczanie suchej pozostałości .....	38
2. Oznaczanie pozostałości po prażeniu .....	38
3. Oznaczanie zasolenia roztworu wodnego gleby metodą konduktometryczną .....	38
4. Oznaczanie zawartości chlorków metodą Mohra (miareczkowanie argentometryczne) .....	39
5. Oznaczanie zawartości siarczanów metodą wagową (PN-74/C-04566. 09) .....	40
6. Oznaczanie składu jonowego metodą chromatograficzną .....	41
7. Oznaczanie jonów metodami spektrofotometrycznymi (ASA, AES i ICP) .....	42
V. Oznaczanie składu chemicznego roślin .....	43
1. Oznaczanie popiołu surowego .....	43
2. Oznaczanie skrobiowości ziemniaków metodą polową .....	44
3. Oznaczanie zawartości skrobi w ziemniakach metodą polarymetryczną .....	45
4. Oznaczanie zawartości cukrów redukujących PN-61/A-88023 .....	46
5. Oznaczanie azotu ogólnego metodą Kjeldahla (z miareczkowaniem) .....	47
6. Oznaczania białka metodą spektrofotometryczną .....	49
7. Oznaczanie zawartości tłuszczu surowego metodą ekstrakcyjno-wagową (metoda Soxhleta) .....	49
Literatura uzupełniająca .....	51



# I. OZNACZANIE ZDOLNOŚCI SORPCYJNYCH GLEBY

## *Wstęp i definicje*

Pojęcie sorpcji glebowej jest sformułowaniem ogólnym i obejmuje zdolność gleby do zatrzymywania rozmaitych substancji również dostarczanych z zewnątrz: ciał stałych, jonów, cząstek gazów, mikroorganizmów glebowych i innych substancji. Zatrzymywanie substancji i równomierne ich rozproszanie przez dyfuzję w całej objętości cieczy a także ciał stałych (gleby) to **absorpcja**. Natomiast zjawisko powierzchniowego zagęszczenia substancji rozproszonej w strefie granicznej dwóch ośrodków fazowych w porównaniu z pozostałą ich objętością nazywamy **adsorpcją**. **Desorpcja** jest procesem odwrotnym do adsorpcji i absorpcji i polega na przechodzeniu do roztworu uprzednio zasorbowanych cząsteczek.

W zależności od podmiotu i przedmiotu sorpcji możemy wyróżnić następujące rodzaje sorpcji: mechaniczną, fizyczną, biologiczną, chemiczną, fizykochemiczną (wymenną).

**Sorpcja mechaniczna** polega na zatrzymywaniu na powierzchni gleby i w jej powierzchniowej warstwie substancji dostarczonych z zewnątrz w formie ciał stałych o określonych rozmiarach. Gleba zachowuje się jak sącdek, w związku z czym jest w stanie zatrzymać z przesiąkającej przez nią zawiesiny wszystkie cząsteczki o średnicach większych do przestworów glebowych. Wielkość sorpcji mechanicznej zależy głównie od składu granulometrycznego gleb. Gleby ciężkie, o dużej ilości frakcji koloidalnych odznaczają się większymi zdolnościami sorpcyjnymi na drodze mechanicznej, niż gleby lekkie.

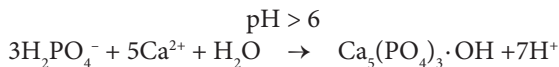
**Sorpcja fizyczna** polega na zagęszczaniu i zatrzymywaniu przez fazę stałą gleby (siłami oddziaływania międzycząsteczkowego – van der Waalsa) całych molekuł np. pary wodnej, gazów ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{O}_2$ ,  $\text{NH}_3$ ) i drobnoustrojów. Zatrzymywanie to może występować na powierzchni lub wewnątrz agregatów glebowych oraz na powierzchni wewnętrznej minerałów ilastych. Największe stężenie zatrzymywanych substancji występuje na powierzchni zetknięcia się fazy stałej gleby z fazą płynną lub gazową, a molekuły zatrzymywane są siłami van der Waalsa. Wielkość powierzchni zdolnej do sorpcji fizycznej w glebach zależy więc od składu granulometrycznego i budowy wewnętrznej minerałów, stąd gleby zawierające znaczne ilości koloidów glebowych, a przede wszystkim minerałów ilastych i próchnicy, odznaczają się dużą sorpcją fizyczną.

**Sorpcja biologiczna** jest zjawiskiem uniwersalnym i polega na zatrzymywaniu kationów i anionów przez żywe organizmy glebowe – rośliny i mikroorganizmy na zasadzie odżywiania. Jej wielkość zależy od rodzaju organizmów, ich fazy rozwojowej, ilości i aktywności. Z chwilą śmierci organizmów ich szczątki ulegają mineralizacji, a uwolnione składniki wracają do roztworu glebowego.

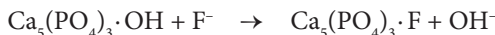
**Sorpcja chemiczna** polega na zaistnieniu w glebie, w określonych warunkach, reakcji chemicznych i wytworzeniu wiązań chemicznych pomiędzy składnikami roztworu glebowego, w wyniku których powstają nierozpuszczalne związki chemiczne. Wytrącone osady w miejscu powstania zatrzymywane są na drodze sorpcji mechanicznej. Klasycznym przykładem ilustrującym sorpcję chemiczną w glebie, najistotniejszą z rolniczego punktu widzenia, jest przechodzenie rozpuszczalnych w wodzie I-rzędowych fosforanów w fosforany (II- i III-rzędowe) nierozpuszczalne w wodzie. W glebach obojętnych i zasadowych zawierających wolne jony wapnia i magnezu wytrącają się nierozpuszczalne w wodzie



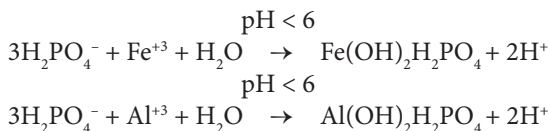
III-rzędowe fosforany wapnia i magnezu  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  i  $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$ , przekształcające się z czasem w hydroksyapatyt



i w obecności fluoru w trwały fluoroapatyt.



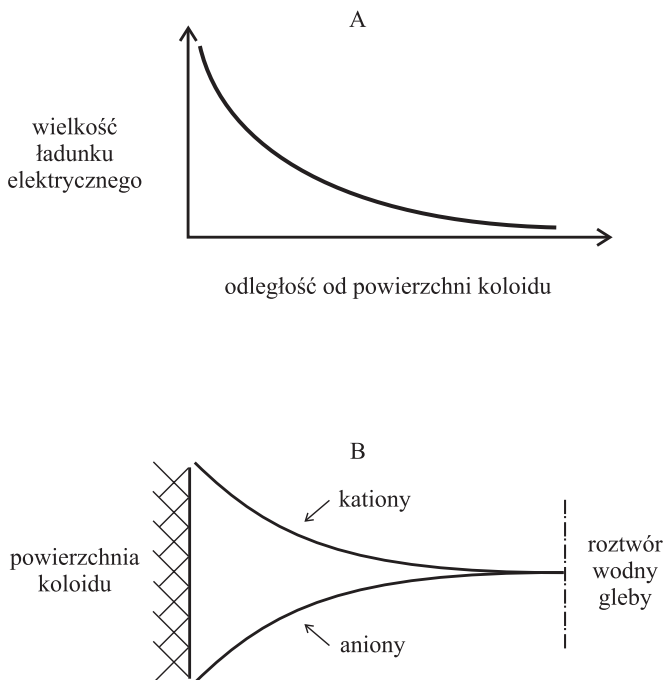
Natomiast w glebach kwaśnych i bardzo kwaśnych, w których jonów zasadowych jest niewiele, a dominują kationy wymienne żelaza i glinu wytrącają się trudno rozpuszczalne fosforany hydroksyżelazowe –  $\text{Fe}(\text{OH})_2\text{H}_2\text{PO}_4$  i hydroksyglinowe  $\text{Al}(\text{OH})_2\text{H}_2\text{PO}_4$ ,



przekształcające się z czasem na nierozpuszczalny strengit –  $\text{FePO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  i waryscyt –  $\text{AlPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

Sorpcja chemiczna anionów fosforanowych posiada ogromne znaczenie dla procesów odżywiania roślin. Zjawisko to z jednej strony jest bardzo korzystne, ponieważ nie dochodzi do wypłukiwania fosforanów z gleby, z drugiej zaś wpływa ujemnie na przyswajalność i pobieranie fosforanów przez rośliny.

**Sorpcja fizykochemiczna** dotyczy jonów roztworu wodnego gleby oraz koloidów glebowych organicznych (próchnicy) i mineralnych (minerały ilaste) określanymi jako tzw. kompleks sorpcyjny gleby (KSG). Stanowi ona pośredni rodzaj sorpcji pomiędzy sorpcją fizyczną i chemiczną ze względu na siłę i trwałość zatrzymywania substancji rozproszonej w ośrodku dyspersyjnym przez fazę stałą gleby, obdarzoną określonym ładunkiem elektrycznym. Koloidalne cząstki gleby wykazują przeważnie ładunek ujemny, który powstaje przede wszystkim w wyniku izomorficznego podstawienia w siatkach krystalicznych kationów trójwartościowych kationami o podobnej wielkości, ale o mniejszej wartościowości – ładunek stały, oraz dysocjacji  $\text{H}^+$  z kwasów humusowych i kaolinitu – ładunek zmienny. Wymiana jonów pomiędzy roztworem i fazą stałą zachodzi w ilościach chemicznie równoważnych i trwa do momentu zrównoważenia stężeń. Mechanizm sorpcji fizykochemicznej polega na przyciąganiu przez ujemnie naładowane powierzchnie koloidów określonych kationów rozproszonych w roztworze (elektrolicie) podlegających działaniu sił elektrostatycznych (wiążących kationy z koloidem) i kinetycznych (dążących do zdysocjowania, oderwania od powierzchni koloidu i swobodnej dyfuzji jonów). Efektem oddziaływania tych przeciwstawnych sił jest wytworzenie na powierzchni koloidu gradientu potencjału elektrycznego (rys. 1).



Rys 1. Schemat oddziaływań elektrostatycznych w powierzchniowej części koloidu glebowego: A – wielkość potencjału elektrycznego w zależności od odległości do powierzchni koloidu, B – rozkład jonów w warstwie kompensacyjno-dyfuzyjnej

W stanie elektrochemicznego zrównoważenia występuje określony rozkład jonów pomiędzy siatką krystaliczną koloidu, warstwą zasorbowanych wymiennie jonów i roztworem wodnym gleby. W miarę oddalania się od powierzchni koloidu (przy której stężenie kationów jest wysokie) stężenie kationów zmniejsza się asymptotycznie do stężenia roztworu glebowego, w którym jest równoważne stężeniu anionów. Przestrzeń wokół ujemnie naładowanej powierzchni koloidu, w której występuje podwyższone stężenie kationów (warstwa kompensacyjno-dyfuzyjna) ma grubość od 5 do 10 nm, a równowaga pomiędzy jonami tej warstwy i roztworu wodnego gleby ma charakter dynamiczny i jest łatwo i szybko użytkiwana. Wszystkie kationy wymienne kompleksu sorpcyjnego gleby stanowią **pojemność sorpcyjną gleby** (T) (*cation exchange capacity CEC*), którą w przeliczeniu na kationy jednowartościowe wyraża się w  $\text{mmol}(+) \cdot 100\text{g}^{-1}$  lub  $\text{cmol}(+) \cdot \text{kg}^{-1}$  powietrznie suchej gleby. Natomiast suma kationów zasadowych wymiennie związanych z fazą stałą gleby to **suma zasad wymiennych** (S). Udział zasad wymiennych w pojemności sorpcyjnej gleby, zwykle wyrażany w procentach, określa **stopień wysycenia zasadami** (V) kompleksu sorpcyjnego gleby

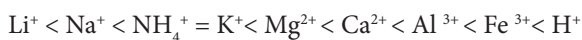
$$V = \frac{S}{T} (\%)$$

Mineralną część kompleksu sorpcyjnego stanowią przede wszystkim minerały ilaste z grupy **kaolinitu, montmorylonitu i illitu**, ale również rozdrobnione **glinokrzemiany**

**oraz wodorotlenki żelaza i glinu.** Koloidy te różnią się nie tylko budową, ale i pojemnością sorpcyjną. Minerale ilaste z grupy kaolinitu charakteryzują się małą pojemnością sorpcyjną – od 3 do 15 cmol(+)·kg<sup>-1</sup> minerału. Minerale z grupy montmorylonitu odznaczają się znacznie większą pojemnością 80–120 cmol(+)·kg<sup>-1</sup> minerału, wermikulit 100–200 cmol(+)·kg<sup>-1</sup> minerału. Pośrednie miejsce zajmują minerale z grupy illitu, których pojemność sorpcyjna mieści się w zakresie 15–40 cmol(+)·kg<sup>-1</sup> minerału. Małą pojemność sorpcyjną wykazują wodorotlenki glinu i żelaza – do 4 cmol(+)·kg<sup>-1</sup> minerału, ale ze względu na ich powszechne występowanie w glebach odgrywają znaczącą rolę w zjawiskach sorpcyjnych.

Spośród *organicznych koloidów glebowych* największą zdolnością sorpcyjną charakteryzuje się próchnica glebowa; 150–250 cmol(+)·kg<sup>-1</sup> substancji.

W naszych warunkach glebowo-klimatycznych pojemność sorpcyjna gleb mineralnych zazwyczaj mieści się w przedziale od 5 do 15 cmol(+)·kg<sup>-1</sup>, a w największych ilościach sorbowany jest wapń (Ca<sup>2+</sup>) i magnez (Mg<sup>2+</sup>), w średnich wodór (H<sup>+</sup>), potas (K<sup>+</sup>) i sód (Na), pozostałe kationy w mniejszych ilościach. Sorpcja kationów poszczególnych pierwiastków na koloidach glebowych jest procesem złożonym i zależy przede wszystkim od średnicy jonów w stanie uwodnionym, która wiąże się z gęstością ładunku elektrycznego przypadającą na jednostkę jego powierzchni, a ponadto do ich stężenia, wzajemnych oddziaływań, warunków fizyko-chemicznych środowiska glebowego i wiąże się z energią wejścia (wymiany). Największą energię wymiany wykazują kationy trójwartościowe, a najmniejszą jednowartościowe, wyjątek stanowi kation wodoru o największej energii wejścia. W obrębie kationów o tej samej wartościowości energia wymiany wzrasta wraz ze zmniejszeniem średnicy kationu w stanie uwodnionym. Kationy można uszeregować w kolejności poczynając od najmniejszej, do największej energii wejścia do kompleksu sorpcyjnego:



Obok energii wejścia ważną rolę w procesach zachodzących w glebie spełnia **energia wyjścia**, czyli **desorpcja** kationów z kompleksu. Jako regułę przyjmuje się, że im łatwiej jakiś jon wchodzi do kompleksu sorpcyjnego, tym trudniej jest go usunąć. Poszczególne kationy zasorbowane wymienne wywierają znaczny wpływ na stan koloidów glebowych (zol/żel), a przez to na właściwości fizyczne i fizyko-chemiczne gleb (tab. 1).

Tabela 1. Wpływ kationów wymiennie zasorbowanych na właściwości gleby

Wyszczególnienie	Kationy	Wpływ
Stan dyspersji	Na > K > Mg > Ca > Al	zmniejsza się
Plastyczność	Na > K > Mg > Ca > Al	zmniejsza się
Zwięzłość	Na > K > Mg > Ca > Al	zmniejsza się
Pęcznienie	Na > K > Mg > Ca > Al	zmniejsza się
Trwałość struktury	Na < K < Mg < Ca < Al	wzrasta
pH zawiesiny	Na < K < Mg < Ca < Al	zmniejsza się
Szybkość filtracji	Na < K < Mg < Ca < Al	wzrasta
Szybkość podsiąkania	Na > K > Mg > Ca > Al	zmniejsza się
Higroskopowość	Na > K > Mg > Ca > Al	zmniejsza się

**Sorpcja wymienna anionów** zachodzi w glebach uprawnych dzięki obecności amfoterycznych koloidalnych wodorotlenków żelaza i glinu oraz na brzeźnych powierzchniach i krawędziach koloidów mineralnych. Jej wielkość stanowi zaledwie kilka procent w stosunku do sorpcji kationów. Wielkość sorpcji anionów zwiększa się w warunkach niskiego pH gleby, poniżej pH *punktu izoelektrycznego* koloidów glebowych. Przy dużym stężeniu kationów wodorowych w roztworze odciągają one z powierzchni koloidów aniony OH – w wyniku czego tworzy się cząsteczka wody, a powierzchnia koloidu przyjmuje ładunek dodatni i otacza się anionami zdolnymi do wymiany na inne. Ten niespecyficzny mechanizm jest analogiczny jak w przypadku sorpcji kationów.

### *Metody oznaczania*

Liczne metody analityczne i ich modyfikacje oznaczania pojemności sorpcyjnej gleb przewidują oznaczenie stężenia kationów zasadowych i stężenia kationów wodorowych, których obliczona suma stanowi pojemnością sorpcyjną gleby. Oznaczanie wymiennej pojemności kationowej gleby można opierać na różnych podstawach:

- na ilości zasorbowanych kationów jednego rodzaju, nasycających wszystkie miejsca wymiany jonowej gleby,
- na ilości wszystkich kationów wypartych (zasadowych i wodorowych) z fazy stałej gleby.

### **Oznaczanie sumy zasadowych wymiennych (S) według Kappena**

Metoda polega na wyparciu z gleby wymiennie związanych kationów o charakterze zasadowym przez jony wodorowe pochodzące z HCl, a następnie na oznaczeniu w przesączu pozostałego po reakcji ilości kwasu. Różnica pomiędzy użytą ilością HCl, a ilością pozostałą po reakcji wymiany z glebą jest miarą zawartości kationów wymiennych. Metody tej nie stosuje się do gleb węglanowych.

Do analizy odważa się 20 g gleby powietrznie suchej i przesianej przez sito o średnicy oczek 2 mm do kolby Erlenmayera o pojemności 250 cm<sup>3</sup>. Następnie dodać 100 cm<sup>3</sup> 0,1 mol(+) · dm<sup>-3</sup> HCl i wytrząsać przez 1 godzinę. Przesączyć przez miękki sączonek bibułowy do kolby Erlenmayera o pojemności 250 cm<sup>3</sup>. Po przesączeniu pobrać pipetą dokładnie 25 cm<sup>3</sup> klarownego przesączu do kolby stożkowej o pojemności 100 cm<sup>3</sup>. Następnie dodać kilka kropli indykatora Tashiro i miareczkować roztworem 0,1 mol(+) · dm<sup>-3</sup> NaOH do zmiany zabarwienia z fioletowego na zielone. Jednocześnie przeprowadzić próbę ślepą (odczynnika). Sumę wymiennych kationów zasadowych (S) oblicza się ze wzoru:

$$S = \frac{(b - a) \cdot M \cdot 500}{V} \quad (\text{mmol}(+) \cdot 100^{-1} \text{g lub cmol}(+) \cdot \text{kg}^{-1})$$

S – suma kationów zasadowych

a – ilość cm<sup>3</sup> 0,1 mol(+) · dm<sup>-3</sup> NaOH zużyta na miareczkowanie przesączu,

b – ilość (cm<sup>3</sup>) roztworu 0,1 mol(+) · dm<sup>-3</sup> NaOH zużyta na miareczkowanie 25 cm<sup>3</sup> 0,1 mol(+) · dm<sup>-3</sup> HCl,

V – objętość (cm<sup>3</sup>) roztworu przesączu użyta do miareczkowania,

M – stężenie molowe roztworu NaOH,

500 – przelicznik na 100 g gleby.

**Sprzęt:** waga techniczna, wytrząsarka, biureta.

**Szkló i akcesoria:** kolby Erlenmajera 250 cm<sup>3</sup>, pipety, kolba miarowa na 1000 cm<sup>3</sup>, lejki szklane, sącdek bibułowy.

**Odczynniki:** Roztwór 0,1 mol(+) · dm<sup>-3</sup> NaOH.

Roztwór 0,1 mol(+) · dm<sup>-3</sup> HCl.

Wskaźnik Tashiro.

### ***Oznaczanie kationów wymiennych o charakterze zasadowym przy użyciu roztworu octanu amonu***

#### **a) Przygotowanie wyciągu glebowego**

Odważyć 2–10 g gleby powietrznie suchej i przesianej przez sito o średnicy oczek 2 mm, glebę umieścić w zlewce o pojemności 100 cm<sup>3</sup> i zalać taką ilością 1 mol(+) · dm<sup>-3</sup> roztworu octanu amonu o pH 7, aby warstwa wody nad glebą miała grubość około 1 cm. Zawartość zmieszać przy użyciu bagietki i pozostawić na 24 godziny. Po tym czasie ponownie zmieszać i przenieść na lejek z twardym sączkiem umieszczony w kolbie miarowej na 100 cm<sup>3</sup>. Do ilościowego przeniesienia gleby używać małych porcji 1 mol(+) · dm<sup>-3</sup> roztworu octanu amonu, a następnie przemywać glebę na sączku małymi porcjami octanu amonu do zaniku reakcji na wapń. Test przeprowadza się w ten sposób, że do kilku kropli przesącza dodaje się kilka kropel 0,5 mol(+) · dm<sup>-3</sup> roztworu kwasu szczawowego, brak osadu wskazuje, że z próby glebowej zostały wyparte kationy wymienne. Objętość przesącza w kolbie miarowej uzupełnia się do 100 cm<sup>3</sup>. W przypadku uzyskania większej objętości przesącza należy go zageścić przez odparowanie na łaźni wodnej. Uzyskany przesącz powinien być klarowny i natychmiast poddany analizie, ewentualne krótkie przechowywanie wymaga obniżonej temperatury (0–5°C) i dodatku środka bakteriostatycznego (kilka kropel chloroformu).

**Sprzęt:** waga techniczna, pehametr, łaźnia wodna.

**Szkló i akcesoria:** lejki, zlewki o pojemności 100 i 250 cm<sup>3</sup>, kolby miarowe 100 i 1000 cm<sup>3</sup>, tryskawki, bagietka szklana, kropłomierz, sącdek twardy.

**Odczynniki:**

Roztwór octanu amonu 1 mol(+) · dm<sup>-3</sup> o pH 7. Odważyć na wadze technicznej 77,08 g octanu amonu (CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub>), rozpuścić w wodzie, przenieść do kolby miarowej o pojemności 1000 cm<sup>3</sup> i uzupełnić do kreski miarowej. Otrzymany roztwór powinien mieć pH 7 (sprawdzić wartość za pomocą pehametru). Do wartości pH 7 roztwór octanu amonu doprowadza się, dodając kroplami amoniak (jeżeli wykazuje odczyn kwaśny) lub kwas octowy (jeżeli wykazuje odczyn zasadowy).

Roztwór kwasu szczawowego 0,5 mol(+) · dm<sup>-3</sup>. Odważyć na wadze technicznej 63,04 g kwasu szczawowego (COOH · COOH · 2 H<sub>2</sub>O) i rozpuścić w wodzie w kolbie o pojemności 1000 cm<sup>3</sup>, uzupełnić objętość do kreski miarowej.

#### **b) Oznaczenie zawartości Ca, K i Na metodą ASE**

Analizę wykonuje się bezpośrednio w przesączu glebowym metodą atomowej spektrofotometrii w zakresie emisyjnym, zwykle przeprowadzana jest ona w wersji z użyciem krzywej wzorcowej (rzadziej w wersji z dodatkiem wzorca).

Badany roztwór poprzez kapilarę jest wprowadzany do nebulizera, z którego w postaci aerozolu przedostaje się do atomizera płomieniowego, którego zadaniem jest wytworzenie swobodnych atomów badanych pierwiastków z dużą wydajnością i zapewnieniem proporcjonalności między ich stężeniem w próbce i strefie (przestrzeni) analitycznej. Pod wpływem wysokiej temperatury (1000–2000°C) atomy ulegają wzbudzeniu, a następnie powracając na niższe poziomy energetyczne emitują kwanty promieniowania o długościach fali charakterystycznych dla danego pierwiastka w tym tzw. linie rezonansowe. Promieniowanie to trafia na monochromator (polichromator), którego zadaniem jest rozszczepienie promieniowania i przepuszczenie do detektora (detektorów) wybranych długości fal rezonansowych charakterystycznych dla badanych pierwiastków: wapnia –  $\lambda = 422,7$  nm, potasu –  $\lambda = 766,5$  nm i sodu –  $\lambda = 589,0$  nm. Wytworzony w detektorze sygnał elektryczny jest wzmacniany i zatrzymywany w formie elektronicznej. Pomiar emisji kolejnych roztworów wzorcowych pozwala na komputerową konstrukcję krzywej wzorcowej i określenie zawartości oznaczanych kationów w analizowanych próbach w zaprogramowanych jednostkach odczytu.



Fot. 1 Spektrofotometr Hitachi Z – 2000: a – kapilara zasysająca próbę, b – atomizer, c – układ optyczny, d – komora na lampy z katodą wewnętrzną, e – panel sterujący, f – ujściu spalin, g – jednostka komputerowa.

Roztwory wzorcowe do oznaczania **wapnia** sporządza się w następujący sposób: do kolb miarowych o pojemności 100 cm<sup>3</sup> odmierzyć kolejno: 0, 1, 2, 3, 5, 8, 10, 12, 15 i 20 cm<sup>3</sup> roztworu wzorcowego podstawowego o zawartości 1 mg Ca w 1 cm<sup>3</sup>, zawartość kolb uzupełnić do 100 cm<sup>3</sup> 1 N roztworem CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub> o pH 7.

Roztwory wzorcowe robocze do oznaczania **potasu i sodu** sporządza się w następujący sposób: do kolb miarowych o pojemności 100 cm<sup>3</sup> odmierzyć kolejno: 0, 1, 2, 4, 8, 10, 20 i 40 cm<sup>3</sup> roztworu wzorcowego podstawowego o zawartości 0,1 mg K w 1 cm<sup>3</sup> i 0,1 mg Na w 1 cm<sup>3</sup>, zawartość kolb uzupełnić do 100 cm<sup>3</sup> 1 mol(+) · dm<sup>-3</sup> roztworem CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub> o pH 7.

**Sprzęt:** Spektrofotometr absorpcji atomowej z atomizerem płomieniowym (Hitachi Z – 2000), waga analityczna.

**Szkło i akcesoria:** Kolby miarowe o pojemności 100 i 1000 cm<sup>3</sup>, zlewki o pojemności 50, 150 i 250 cm<sup>3</sup>, pipety miarowe o pojemności 50 i 100 cm<sup>3</sup>, biureta, tryskawka.

**Odczynniki:** *Roztwór wzorcowy podstawowy o stężeniu 1 mg Ca w 1 cm<sup>3</sup>.* Na wadze analitycznej odważa się 4,3957 g octanu wapnia (Ca(CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub> · H<sub>2</sub>O). Naważkę przenosi się do zlewki o pojemności 250 cm<sup>3</sup> i rozpuszcza w wodzie. Następnie przenosi się roztwór ilościowo do kolby miarowej o pojemności 1000 cm<sup>3</sup>, dopełnia zawartość kolby do kreski miarowej i miesza. Tak przygotowany roztwór zawiera 1 mg Ca w 1 cm<sup>3</sup>. Wzorcowy roztwór podstawowy wapnia o stężeniu 1 mg Ca w 1 cm<sup>3</sup> można wykonać również z węglanu wapnia (CaCO<sub>3</sub>). W tym przypadku odważa się 2,4972 g CaCO<sub>3</sub> i rozpuszcza podgrzewając w małej zlewce 4% roztworem HCl. Roztwór przenosi się ilościowo za pomocą wody destylowanej do kolby miarowej o pojemności 1000 cm<sup>3</sup> i dopełnia kolbę do znaku miarowego wodą.

*Roztwór wzorcowy podstawowy o stężeniu 1 mg K w 1 cm<sup>3</sup> i 1 mg Na w 1 cm<sup>3</sup>.* Na wadze analitycznej odważa się 1,907 g chlorku potasu (KCl) uprzednio wysuszonego do stałej masy w temperaturze 105°C oraz 2,5418 g chlorku sodu (NaCl) uprzednio wysuszonego do stałej masy w temperaturze 130°C. Obie naważki przenosi się do zlewki o pojemności 250 cm<sup>3</sup> i rozpuszcza wodą. Następnie roztwór przenosi się ilościowo do kolby miarowej o pojemności 1000 cm<sup>3</sup>, dopełnia kolbę wodą do znaku miarowego i miesza. Tak przygotowany roztwór zawiera 1 mg K i mg Na w 1 cm<sup>3</sup>.

*Roztwór wzorcowy roboczy o stężeniu 0,1 mg K i 0,1 mg Na w 1 cm<sup>3</sup>.* Roztwór roboczy otrzymuje się przez rozcieńczenie wodą roztworu podstawowego. Odmierza się pipetą 100 cm<sup>3</sup> roztworu podstawowego do kolby miarowej o pojemności 1000 cm<sup>3</sup> i uzupełnia zawartość kolby do znaku miarowego wodą. Po uzupełnieniu należy roztwór dobrze wymieszać. Roztwory wzorcowe przechowuje się w temperaturze 0–5°C.

### c) Oznaczenie zawartości magnezu metodą ASA

Analizę wykonuje się bezpośrednio w przesączu gębowym metodą atomowej spektrofotometrii w zakresie absorpcyjnym, zwykle przeprowadzana jest ona w wersji z wykorzystaniem krzywej wzorcowej. Badany roztwór poprzez kapilarę jest wprowadzany do nebulizera, z którego w postaci aerozolu przedostaje się do atomizera płomieniowego, którego zadaniem jest wytworzenie swobodnych atomów magnezu z dużą wydajnością i zapewnieniem proporcjonalności między ich stężeniem w próbce i strefie (przestrzeni) analizy. Strefę analizy stanowi wiązka promieniowania elektromagnetycznego o długości charakterystycznej dla linii rezonansowych (analitycznych) magnezu –  $\lambda = 285,2$  nm, której źródłem jest odpowiednia lampa z katodą wnątkową. Wolne atomy magnezu pochłaniają (absorbują) energię własnej linii rezonansowej, która jest przepuszczana przez monochromator do detektora i następuje pomiar natężenia promieniowania. Wytworzony sygnał elektryczny jest wzmacniany i zatrzymywany w formie elektronicznej. Pomiar absorbancji kolejnych roztworów wzorcowych pozwala na komputerową konstrukcję krzywej wzorcowej i określenie zawartości magnezu w analizowanych próbkach w zaprogramowanych jednostkach odczytu. Roztwory wzorcowe do oznaczania **magnezu** sporządza się w następujący sposób: do kolb miarowych o pojemności 100 cm<sup>3</sup> odmierza się kolejno: 0; 0,5; 1,0;



2,0; 3,0; 4,0; 5,0 cm<sup>3</sup> roztworu wzorcowego roboczego o zawartości 0,1 mg Mg w 1 cm<sup>3</sup>, zawartość kolb uzupełnia się do 100 cm<sup>3</sup> 1 mol(+) · dm<sup>-3</sup> roztworem CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub> o pH 7,

**Sprzęt:** Spektrofotometr absorpcji atomowej (Hitachi Z – 2000), waga analityczna,

**Szkló i akcesoria:** pipety miarowe, cylinder miarowy, probówki o pojemności 10–15 cm<sup>3</sup>, kolby miarowe 100, 500 i 1000 cm<sup>3</sup>.

**Odczynniki:** *Roztwór wzorcowy podstawowy magnezu* sporządza się w następujący sposób 0,5000 g folii magnezowej oczyszczonej z tlenku rozpuszcza się w około 30 cm<sup>3</sup> 10% roztworu kwasu solnego w kolbie o pojemności 500 cm<sup>3</sup>. Zawartość kolby uzupełnia się wodą do kreski i dokładnie miesza. Roztwór ten zawiera 1 mg Mg w 1 cm<sup>3</sup>.

*Roztwór wzorcowy roboczy magnezu.* Do kolby miarowej o pojemności 500 cm<sup>3</sup> odmierzają się pipetą 50 cm<sup>3</sup> roztworu podstawowego. Zawartość kolby uzupełnia się wodą do kreski miarowej i dokładnie miesza. Roztwór ten zawiera 0,1 mg Mg w 1 cm<sup>3</sup>.

*10% roztwór kwasu solnego.* Do kolby miarowej o pojemności 1000 cm<sup>3</sup> z zawartością około 300 cm<sup>3</sup> wody odmierzają się cylindrem miarowym 230 cm<sup>3</sup> kwasu solnego (d = 1,19 g · cm<sup>-3</sup>), uzupełniają wodą do kreski miarowej i dokładnie miesza.

#### d) Obliczenia

Wartości pomiarów spektrofotometrycznych należy przeliczyć na równoważne stężenia molowe kationów jednowartościowych, uwzględniając masy atomowe oznaczanych pierwiastków i przeliczyć na 1 kg gleby. Algebraiczna suma tych stężeń stanowi sumę zasad wymiennych gleby. W celu obliczenia pojemności sorpcyjnej gleby (T) należy do wyznaczonej sumy zasad wymiennych (S) dodać stężenie jonów wodorowych wymiennie związanych z kompleksem sorpcyjnym gleby (H<sub>n</sub>) – stanowiących kwasowość hydrolytyczną, co wymaga jednak odrębnej procedury analitycznej.

$$T = S + H_n \text{ (mmol (+) · 100 g}^{-1} \text{ lub cmol (+) · kg}^{-1}\text{)}$$

#### ***Oznaczanie kationów wymiennych w glebach zasadowych przy użyciu roztworu chlorku amonu***

Jeżeli gleba zawiera rozpuszczalne w wodzie sole, należy je usunąć przed właściwym oznaczeniem. W tym celu przemywamy glebę 40% etanolem, aż do zaniku reakcji na anion chloru. Test na obecność chloru: 1 cm<sup>3</sup> przesączu zadać kilkoma kroplami 0,1 mol (+) · dm<sup>-3</sup> AgNO<sub>3</sub>, brak zmętnienia świadczy o całkowitym usunięciu chlorków. Jeżeli gleba zawiera siarczany zalewa się ją wodą destylowaną na około 1/2 godziny następnie odsącza i przemywa 40% etanolem. Glebę pozbawioną soli łatwo rozpuszczalnych przed właściwym oznaczeniem należy doprowadzić do stanu powietrznie suchego.

Odważyć 5 g gleby powietrznie suchej, przesianej przez sito o średnicy 2 mm i przenieść do zlewki o pojemności 300 ml, dodać 200 cm<sup>3</sup> 0,5 mol (+) · dm<sup>-3</sup> NH<sub>4</sub>Cl o pH 8,2 i pozostawić na 48 godzin, mieszając kilka razy dziennie szklaną bagietką. Po tym czasie zawartość zlewki przesączyć przez twardy sączek ilościowy. Uzyskany przesącz nadaje się do bezpośredniego wykorzystania w dalszej procedurze analitycznej. Oznaczenie zawartości wapnia, potasu i sodu wykonuje się metodą ASE, magnezu metodą ASA i stosowne obliczenia przeprowadza się tak jak opisano w metodzie oznaczania kationów wymiennych o charakterze zasadowym przy użyciu roztworu octanu amonu.



**Szkoło i akcesoria:** waga analityczna, zlewka o pojemności 300 cm<sup>3</sup>, lejki, kolby miarowe o pojemności 1000 cm<sup>3</sup>, bagietka szklana, twardy sącdek ilościowy.

**Odczynniki:** *Roztwór 0,5 mol (+) · dm<sup>-3</sup> NH<sub>4</sub>Cl o pH 8,2.* Odważyć 26,75 g NH<sub>4</sub>Cl rozpuścić w wodzie destylowanej, doprowadzić wodą amoniakalną do pH 8,2 i uzupełnić w kolbie miarowej do objętości 1 dm<sup>3</sup>.

*Roztwór 0,1 mol (+) · dm<sup>-3</sup> AgNO<sub>3</sub>.* Odważyć 16,99 g AgNO<sub>3</sub> rozpuścić w wodzie destylowanej i uzupełnić w kolbie miarowej do objętości 1 dm<sup>3</sup>.

*40% etanol.*

## II. OZNACZANIE ODCZYNU I KWASOWOŚCI GLEBY

### *Wstęp i definicje*

Występujące w obszarze kompleksu sorpcyjnego gleby [KSG] jony wodorowe i będące w dynamicznej równowadze z nimi wolne jony wodorowe roztworu wodnego gleby, odgrywają bardzo ważną rolę, wpływając w dużym stopniu bezpośrednio i pośrednio na właściwości chemiczne, fizyczne i biologiczne gleby. Ze zmianami stężenia wolnych jonów wodorowych wiąże się między innymi mniejsza lub większa rozpuszczalność składników pokarmowych zawartych w glebie, a więc i ilość dostępna dla roślin. Wpływają one na stan koloidów glebowych (organicznych i mineralnych), co pośrednio wiąże się z tworzeniem agregatów strukturalnych gleby i ich wodotrwałością. Od stężenia jonów wodorowych zależy również w dużym stopniu intensywność rozwoju drobnoustrojów glebowych (poszczególne rodzaje w nieodpowiednich dla siebie warunkach przechodzą w formy przetrwalnikowe). Ponadto zawartość wolnych jonów wodorowych w glebie nie jest obojętna dla uprawianych kultur roślin rolniczych, a także wywiera wpływ na proces glebotwórczy.

Ogólną reakcję gleby mierzoną zmianą właściwości chemicznych, fizycznych i biologicznych na stężenie jonów wodorowych nazywamy odczynem gleby, zaś miarą tej reakcji jest wskaźnik pH roztworu glebowego (wykładnik jonów wodorowych). Wskaźnik pH stosowany bywa do określania stężenia jonów wodorowych w różnych roztworach nie tylko w roztworze wodnym gleby, ma więc charakter uniwersalny. Jego wartość wywodzi się ze stałej dysocjacji czystej wody, która w temperaturze 22°C wynosi:

$$K = \frac{H^+ \cdot [OH^-]}{[H_2O]} = 1,8 \cdot 10^{-16}$$

gdzie:  $[H^+]$  i  $[OH^-]$  są to równe sobie stężenia jonów wodorowych i wodorotlenowych wyrażone w gramojonach na litr,  $[H_2O]$  „stężenie wody” w molach na litr (1000 g : 18 g = 55,56)

stąd iloczyn jonowy wody  $[H^+] \cdot [OH^-]$  wynosi:

$$1,8 \cdot 10^{-16} \cdot 55,56 = 1 \cdot 10^{-14}$$

Z uwagi na to, że w wyniku dysocjacji otrzymuje się tyle samo jonów  $[H^+]$  i  $[OH^-]$ , stężenie każdego z nich wynosi  $10^{-7}$  gramojonów, co oznacza, że w litrze czystej wody masa jonów wodorowych wynosi  $1 \cdot 10^{-7}$  (1/10 000 000) grama. Wprowadzona ze względów praktycznych (przez Sørensen w 1909 roku) transformacja wartości stężenia jonów  $[H^+]$  ujemnym logarytmem dziesiętnym została nazwana pH – wykładnikiem jonów wodorowych i dla czystej wody wynosi on 7. W roztworach o większym stężeniu jonów wodorowych – nazywanych kwaśnymi, wartości pH będą mniejsze i odwrotnie.

Warto pamiętać, że wzrost/spadek pH o stałą wielkość nie powoduje równomiernego zmniejszenia/wzrostu stężenia jonów wodorowych. Np. wzrost pH od 2 do 3 powoduje spadek stężenia jonów wodorowych tysiąc razy większy w porównaniu do wzrostu pH od 5 do 6.

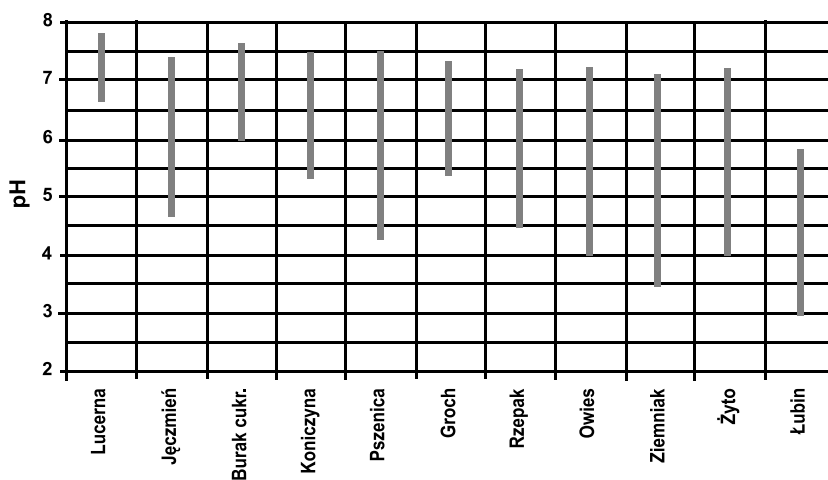
Do naturalnych przyczyn zakwaszenia gleb w Polsce należy:

- charakter strefy klimatycznej (semihumidowy), czyli przewaga opadów nad parowaniem i związany z nią perkolacyjny typ gospodarki wodnej w glebie,

- procesy glebotwórcze (wmywanie, przemywanie). Wmywanie wapnia może wynosić do  $200 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$  rocznie,
  - charakter skał glebotwórczych (skały macierzystej). Ponad 90% gleb w Polsce wytworzonych jest z kwaśnych utworów genezy lodowcowej, o różnym stopniu przemycia ze składników zasadowych,
  - procesy zachodzące w glebie np. oddychanie korzeni roślin i drobnoustrojów glebowych. Powstający na skutek oddychania organizmów glebowych  $\text{CO}_2$ , w niskich temperaturach koncentruje się w glebie i wpływa na wzrost zakwaszenia. Sprzyjają mu także niektóre naturalne procesy przemian związków organicznych (w tym rozkład materii organicznej) i związków azotu (np. nityfikacja). Roztwór glebowy cały czas wzbogaca się w jony  $\text{H}^+$  w wyniku biologicznego utleniania  $\text{Fe}^{2+}$ , siarki pierwiastkowej i siarczków, zaś rozkład glinokrzemianów prowadzi do powstawania wolnych jonów  $\text{Al}^{3+}$ ,
  - utrata pewnej ilości związków zasadowych przez ich wyprowadzanie z plonami roślin. Pobranie wapnia z plonem może wynosić od 15 do  $80 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$  rocznie a w przypadku lucerny lub innych wieloletnich motylkowatych nawet  $300 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$  rocznie.
- Antropogeniczne przyczyny zakwaszenia to:
- wysoki poziom nawożenia mineralnego (zwłaszcza stosowanie fizjologicznie kwaśnych nawozów azotowych w tym szczególnie siarczanu amonu),
  - lokalne zanieczyszczenia np. tereny wokół kopalni siarki lub z nieszczelnych środków transportu,
  - gazowe zanieczyszczenia powietrza ( $\text{SO}_2$ ,  $\text{NO}_x$ ,  $\text{CO}_2$ ), które w połączeniu z parą wodną tworzą kwaśne deszcze. Główne źródło emisji tych tlenków to przemysł energetyczny i motoryzacja.

### *Wymagania roślin uprawnych w stosunku do odczynu gleby*

Większość roślin najlepiej rozwija się na glebach o odczynie lekko kwaśnym i obojętnym (pH 6–7), co wiąże się również z optimum przyswajalność składników pokarmowych. Poszczególne gatunki mają jednak różne wymagania pod tym względem (rys. 2).



Rys. 2. Wymagania wybranych gatunków roślin uprawnych co do odczynu gleby

Mało wrażliwe na pH są np. owies, łubin, ziemniaki czy żyto, znoszące stosunkowo dobrze kwaśny odczyn gleby (są to rośliny gleb lekkich). Rośliny preferujące gleby bardziej związane, takie jak jęczmień, pszenica, lucerna, rzepak, burak wymagają odczynu zbliżonego do obojętnego. Wrażliwość roślin na odczyn gleby zależy również, od zawartości materii organicznej. Rośliny uprawiane na glebach organicznych są bardziej tolerancyjne na niskie wartości pH, niż te same rośliny rosnące na glebach mineralnych.

#### *Metody oznaczania odczynu roztworu glebowego*

#### **Oznaczanie odczynu gleby w warunkach polowych**

Określone gatunki roślin wykazują wrażliwość na stężenie wolnych jonów wodorowych w roztworze glebowym, można je zatem traktować jako **wskaźniki odczynu glebowego**. Dla gleb zasadowych i obojętnych w siedliskach leśnych charakterystyczne są: buk pospolity, trzmielina, dereń, dzika róża, śliwa tarnina, a w podszyciu: przylaszczka, zawilec, naparstnica, wilcza jagoda, zaś na terenach rolniczych – chwasty: miłek letni, jaskier polny, gorczyca polna, ostróżka polna, przelot pospolity, koniczyna pagórkowa i inne. Roślinami wskaźnikowymi gleb o odczynie kwaśnym są natomiast: kłosówka miękka, bliźniczka psia trawka, szczaw polny, poziomnik, rzodkiew świrzepa, skrzyp, a także paproć, naparstnica purpurowa, wrzos, turzyce i torfowce.

Jeśli po zadaniu próbki gleby kwasem solnym następuje **burzenie** oznacza to, że gleba zawiera węglan wapnia. Stąd możemy wnioskować, że posiada odczyn zasadowy (pH powyżej 7). W przypadku braku burzenia przyjmujemy, że jej odczyn jest bardziej lub mniej kwaśny (pH poniżej 7), bądź posiada ona odczyn obojętny (pH około 7).

Oznaczanie odczynu gleby **metodą kolorymetryczną** przy użyciu kwasomierza Helliga, polega na zadaniu szczypty gleby do zagłębienia w porcelanowej płytce Helliga, dodaniu kilku kropel indykatora i porównaniu uzyskanej barwy roztworu glebowego ze skalą barw wzorcowych, odpowiadającą określonej wartości pH (fot. 2).



Fot. 2. Zestaw Helliga do oznaczania odczynu gleby:  
a – porcelanowa płytka z barwną skalą, b – zakraplacz płynu Helliga

Zmiana barwy indykatora związana jest z jego dysocjacją na jony o innej barwie niż cząsteczka niezdisocjowana, natomiast stopień dysocjacji indykatora zależy od stężenia wolnych jonów wodorowych w roztworze. W kwasomierzu Helliga jako indykator zwykle stosuje się mieszaninę 0,02% roztworu czerwieni metylowej i 0,04% roztworu błękitu bromotymolowego w proporcjach 1:2 (v/v). Dokładność oznaczenia wynosi od 0,5 do 1,0 jednostki pH, należy go więc traktować jako pomiar przybliżony.

### ***Oznaczanie odczynu gleby metodą potencjometryczną w warunkach laboratoryjnych***

W metodzie tej wykorzystuje się zależność potencjału odpowiedniej elektrody (wodorowej, chinhydronowej, antymonowej lub szklanej) od stężenia jonów wodorowych w roztworze, w jakim się znajduje. Pomiar elektrometryczny polega w istocie na zmierzeniu różnicy potencjałów (w miliwoltach) na biegunach ogniwa stężeniowego zestawionego z 2 półogniw: tzw. elektrody wskaźnikowej (jedna z wyżej wymienionych), zanurzonej w roztworze badanym, oraz tzw. elektrody odniesienia o stałym potencjale (elektrody porównawczej), zanurzonej w roztworze o niezmiennym składzie. Obecnie najczęściej do pomiaru odczynu stosuje się elektrodę kombinowaną, która we wspólnej obudowie zawiera obie potrzebne elektrody: szklaną (pomiarową) i chlorosrebrową lub kalomelową (elektrodę odniesienia), a jego wartość przedstawia w jednostkach pH. Pomiaru dokonuje się w zawiesinie wodnej albo zawiesinie 1 M roztworu KCl przy relacji masy gleby do objętości zawiesiny 1:2,5 (m/v). Pomiar przeprowadzony w 1 M roztworze KCl daje mniejsze pH od pomiaru przeprowadzonego w wodzie. Wynika to z tego, że jeśli oznaczamy pH w wodzie, to mierzymy stężenie jonów wodorowych roztworu glebowego, jeśli zaś w 1 M roztworze KCl to mierzymy stężenie jonów wodorowych roztworu glebowego oraz stężenie jonów wodorowych wypartych z kompleksu sorpcyjnego gleby do roztworu przez KCl.

#### **Przebieg oznaczenia**

Do zlewki o pojemności 100 cm<sup>3</sup> należy odważyć 20 g gleby powietrznie suchej i przesianej przez sito o  $\varnothing$  2 mm i zalać 50 ml wody destylowanej pozbawionej CO<sub>2</sub>. Zawartość zlewki wymieszać szklaną bagietką i pozostawić na co najmniej 2 godziny (w dokładnych badaniach próbki odstawa się na 18–24 godziny, gdyż tyle trwa uzyskanie pełnego stanu równowagi). Po upływie tego czasu zmierzyć pH zawiesiny za pomocą pehametru (fot. 3).

Wcześniej przeprowadzić kalibrację zestawu przy użyciu roztworów buforowych o znanym pH, w przedziale spodziewanych wyników (najczęściej są to roztwory o pH 7,0 oraz 4,0). Pomiar wykonywać w zawiesinie będącej w stanie spokoju lub w zawiesinie mieszanej podczas pomiaru. Większe wartości pH uzyskuje się w zawiesinie w stanie spokoju. Oznaczenie należy wykonać analogicznie zastępując wodę destylowaną roztworem chloru potasu o stężeniu 1 mol (+) · dm<sup>-3</sup>.

Wodę destylowaną wziętą do oznaczenia należy wcześniej gotować przez 1 godzinę w celu ewentualnego rozłożenia węglanów i usunięcia CO<sub>2</sub>, wystudzić i przechowywać w zamkniętym naczyniu. Odczyn roztworu KCl użytego do analizy powinien wynosić pH 6,5–7,0. Jeżeli jest mniejszy lub większy, trzeba dodać odpowiednio 10% roztwór KOH lub rozcieńczony HCl. Po uzyskaniu żądanego pH należy roztwór ten pozostawić do następnego dnia i ponownie sprawdzić wartość pH. Znajomość odczynu gleby pozwala na zaliczenie jej do odpowiedniej klasy (tab. 2).



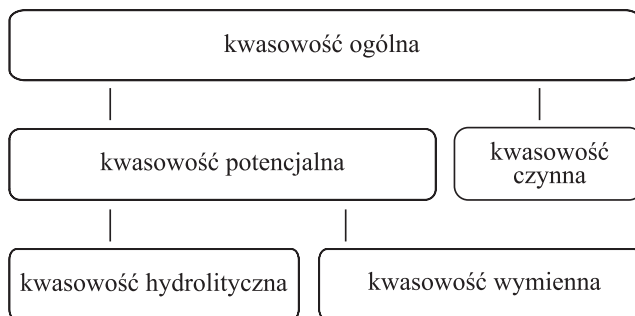
Fot. 3. Pehametr z elektrodą kombinowaną: a – elektroda kombinowana, b – czujnik temperatury, c – zespół elementów pomiarowych w obudowie, d – wyświetlacz cyfrowy

Tabela 2. Klasy odczynu gleb

Klasa odczynu	pH w 1 MKCl	pH w H <sub>2</sub> O
bardzo kwaśny	< 4,5	< 5,0
kwaśny	4,6–5,5	5,1–6,0
lekkو kwaśny	5,6–6,5	6,1–6,7
obojętny	6,6–7,2	6,8–7,4
zasadowy	> 7,2	> 7,4

### Oznaczanie kwasowości gleby

Bardzo istotną z uprawowego punktu widzenia jest również kwasowość gleby. Dotyczy ona zawartości tych samych jonów wodorowych występujących w glebie, które stanowią o odczynie, jednak jest inną ich miarą. Wyraża ona stężenie jonów wodorowych ( $\text{mol}(\text{H}^+) \cdot \text{dm}^{-3}$ ) w odniesieniu do jednostki masy gleby, a ze względu na siły wiążące jony wodorowe wyróżniamy kilka jej rodzajów. Wolne jony wodorowe znajdujące się aktualnie w roztworze wodnym gleby (będące w dynamicznej równowadze z jonami wodorowymi wymiennie zasorbowanymi w kompleksie sorpcyjnym gleby – KSG) stanowią o tzw. *kwasowości czynnej (aktywnej)*. Jony wodorowe zasorbowane wymiennie w KSG stanowią zaś *kwasowość potencjalną* gleby (rys. 3).



Rys. 3. Rodzaje kwasowości gleby (schemat)

Jednakże nie wszystkie jony wodorowe wiązane są z KSG jednakowo silnie, co wiąże się z ich oddaleniem od powierzchni koloidów obdarzonych polem elektrycznym. W warunkach niewielkiego stężenia jonów wodorowych w glebie, zajmują one pozycje bardzo blisko powierzchni koloidu i w związku z tym są silnie wiązane, w miarę zwiększania ich ilości wiązane są na pozycjach bardziej oddalonych od powierzchni koloidu, co wiąże się ze słabszym oddziaływaniem elektrostatycznym. Stąd dla celów praktycznych oznacza się ilość jonów wodorowych słabo związanych z KSG, dających się usunąć solą chemicznie obojętną, które stanowią tzw. *kwasowość wymienną* i ilość jonów wodorowych silnie związanych z KSG, do których ekstrakcji należy użyć soli oddziałującej silnie zasadowo, które decydują o tzw. *kwasowości hydrolitycznej*.

### Oznaczanie kwasowości czynnej

Oznaczenie kwasowości czynnej polega na pomiarze stężenia wolnych jonów wodorowych w zawiesinie glebowej przy proporcji 1 : 2,5 masy gleby do objętości wody. Ilościowe oznaczenie jonów wodorowych wykonuje się przez miareczkowanie równoważną ilością ługu.

#### a) Wykonanie oznaczenia

Odważyć 40 g gleby powietrznie suchej i przesianej przez sito o  $\varnothing 2$  mm do kolby Erlenmayera o pojemności 250–300 ml, dodać 100 ml wody destylowanej i mieszać na wstrząsarce przez 1 godzinę (40 obrotów na minutę). Następnie przesączyć przez średniej grubości sączek, odrzucając pierwsze krople przesączu, pobrać 50 ml przesączu do kolbki stożkowej o pojemności 100 ml i dodać kilka (3–4) kropeł fenoloftaleiny. Miareczkować roztworem NaOH o stężeniu  $0,1 \text{ M} \cdot \text{dm}^{-3}$  do uzyskania jasnorożowego zabarwienia, utrzymującego się przez 1 minutę.

#### b) Obliczenie Hcz

$$\text{Hcz} = a \cdot M_{\text{NaOH}} \cdot 50 \cdot 0,1 \text{ (cmol (+)} \cdot \text{kg}^{-1})$$

- a – ilość ml  $0,1 \text{ mol(+) } \cdot \text{dm}^{-3}$  NaOH zużyta do miareczkowania,
- $M_{\text{NaOH}}$  – stężenie molowe roztworu NaOH użytego do miareczkowania,
- 50 – przeliczenie na 1 kg gleby,
- 0,1 – przeliczenie milimoli na centymole.



### **Oznaczanie kwasowości wymiennej metodą Daikuhary**

Oznaczenie kwasowości wymiennej Hw polega na wyparciu wymiennych jonów wodorowych słabo związanych z kompleksem sorpcyjnym (gleby o  $\text{pH} < 5,5$ ) przy pomocy obojętnego roztworu chlorku potasu o stężeniu  $1 \text{ M} \cdot \text{dm}^{-3}$ . W czasie wytrząsania gleby z roztworem KCl jony  $\text{K}^+$  wnikają do KSG, a jony  $\text{H}^+$  przechodzą do roztworu, zakwaszając go. Ilościowe oznaczenie jonów wodorowych wykonuje się przez miareczkowanie równoważną ilością ługu.

#### a) Wykonanie oznaczenia

Odważyć 40 g gleby powietrznie suchej i przesianej przez sito o  $\varnothing 2 \text{ mm}$  do kolby Erlenmayera o pojemności 250–300 ml i zadać 100 ml roztworu chlorku potasu o stężeniu  $1 \text{ M} \cdot \text{dm}^{-3}$ . Mieszać na wytrząsarce przez 1 godzinę (40 obrotów na minutę). Następnie przesączyć przez średniej grubości sączek, odrzucając pierwsze krople przesączu, pobrać 50 ml przesączu do kolbki stożkowej o pojemności 100 ml i dodać kilka (3–4) kropeł fenoloftaleiny. Miareczkować roztworem NaOH o stężeniu  $0,1 \text{ M} \cdot \text{dm}^{-3}$  do uzyskania jasnoróżowego zabarwienia, utrzymującego się przez 1 minutę.

#### b) Obliczenie Hw

$$\text{Hw} = a \cdot M_{\text{NaOH}} \cdot 50 \cdot 0,1 \cdot 1,75 \text{ (cmol (+) } \cdot \text{kg}^{-1})$$

- a – ilość ml  $0,1 \text{ mol(+) } \cdot \text{dm}^{-3}$  NaOH użyta do miareczkowania,
- $M_{\text{NaOH}}$  – stężenie molowe roztworu NaOH użytego do miareczkowania,
- 50 – przeliczenie na 1 kg gleby,
- 0,1 – przeliczenie milimoli na centymole,
- 1,75 – współczynnik na obliczenie całkowitej kwasowości wymiennej z wyników jednorazowego wytrząsania z chlorkiem.

### **Oznaczanie kwasowości wymiennej metodą Sokołowa**

Oznaczenie kwasowości wymiennej Hw polega na wyparciu wymiennych jonów wodorowych i glinowych z kompleksu sorpcyjnego przy pomocy obojętnego roztworu chlorku sodu o stężeniu  $1 \text{ mol(+) } \cdot \text{dm}^{-3}$ . Po wytrząśnięciu gleby z roztworem KCl jony  $\text{H}^+$  oraz  $\text{Al}^{3+}$  przechodzą do roztworu, a ich miejsce zajmują jony  $\text{K}^+$ . Powstały  $\text{AlCl}_3$  ulega hydrolizie i również powoduje zakwaszenie roztworu. Pierwotnie obojętny roztwór chlorku potasu zakwasza się, a stopień zakwaszenia określa się poprzez miareczkowanie roztworem NaOH o stężeniu  $0,01 \text{ mol(+) } \cdot \text{dm}^{-3}$ .

#### a) Wykonanie oznaczenia

Odważyć 10 g gleby powietrznie suchej i przesianej przez sito o  $\varnothing 2 \text{ mm}$  do kolby Erlenmayera o pojemności 250–300 ml i zadać 100 ml roztworu chlorku potasu o stężeniu  $1 \text{ mol(+) } \cdot \text{dm}^{-3}$ . Mieszać na wytrząsarce przez 1 godzinę (40 obrotów na minutę). Po tym czasie przesączyć przez średniej grubości sączek, odrzucając pierwsze krople przesączu, pobrać 25 ml przesączu, przenieść do kolbki stożkowej o pojemności 100 ml i gotować przez 5 minut. Następnie dodać kilka (3–4) kropeł fenoloftaleiny i zmiareczkować roztwo-



rem NaOH o stężeniu  $0,01 \text{ mol}(+) \cdot \text{dm}^{-3}$  do uzyskania jasnoróżowego zabarwienia, które powinno utrzymać się przez 15–20 sekund.

#### b) Obliczenie Hw

$$\text{Hw} = a \cdot M_{\text{NaOH}} \cdot 400 \cdot 0,1 \quad (\text{cmol}(+) \cdot \text{kg}^{-1})$$

- a – ilość ml  $0,01 \text{ mol}(+) \cdot \text{dm}^{-3}$  NaOH zużyta do miareczkowania,  
 $M_{\text{NaOH}}$  – stężenie molowe roztworu NaOH użytego do miareczkowania,  
400 – przelicznik na 1 kg gleby,  
0,1 – przeliczenie milimoli na centymole.

#### ***Oznaczanie kwasowości hydrolitycznej metodą Kappena***

Oznaczanie kwasowości hydrolitycznej (Hh) wiąże się z wyparciem wszystkich jonów wodorowych i glinowych z kompleksu sorpcyjnego gleby za pomocą roztworu soli hydrolizujących zasadowo (np. octan wapnia lub sodu). Powszechnie stosuje się octan wapnia o stężeniu  $0,5 \text{ mol}(+) \cdot \text{dm}^{-3}$ , którego pH wynosi 8,2. Sól ta hydrolizuje w wodzie na słaby kwas octowy i mocną zasadę wapniową. Kationy wapnia ze zdysocjowanej zasady wapniowej wypierają jony wodorowe i glinowe z kompleksu sorpcyjnego gleby. Powstaje wtedy kwas octowy, powodujący zakwaszenie pierwotnie zasadowego roztworu. Stopień zakwaszenia określa się poprzez miareczkowanie za pomocą mianowanego roztworu wodorotlenku sodu (NaOH) np. o stężeniu  $0,1 \text{ mol}(+) \cdot \text{dm}^{-3}$ . Jednorazowe potraktowanie gleby roztworem octanu wapnia (lub sodu) nie wypiera wszystkich jonów wodorowych i glinowych wymiennie związanych z kompleksem sorpcyjnym, więc ekstrakcję z tej samej próbki gleby należy powtarzać kilka razy, przy każdorazowym użyciu nowej porcji octanu. Przyczyną jest bardzo szybkie ustalanie się stanu równowagi między roztworem a glebą. Aby uniknąć uciążliwej sytuacji wielokrotnego powtarzania ekstrakcji i miareczkowania otrzymanego przesączu, mnoży się wynik miareczkowania przez ustalony empirycznie współczynnik Kappena wynoszący 1,5.

#### a) Wykonanie oznaczenia

Odważyć 40 g gleby powietrznie suchej i przesianej przez sito o  $\varnothing 2 \text{ mm}$  do kolby Erlenmayera o pojemności 250–300  $\text{cm}^3$  i zadać 100  $\text{cm}^3$  roztworu octanu sodu (lub wapnia) o stężeniu  $0,5 \text{ mol}(+) \cdot \text{dm}^{-3}$ . Mieszać na wytrząsarce przez 1 godzinę (40 obrotów na minutę). Następnie przesączyć przez średniej grubości sączek, odrzucając pierwsze krople przesączu i 25  $\text{cm}^3$  przesączu przenieść do kolbki stożkowej o pojemności 100  $\text{cm}^3$ . Dodać 3–4 krople fenoloftaleiny (barwa w tym momencie nie powinna ulec zmianie). Zmiareczkować roztworem NaOH o stężeniu  $0,1 \text{ mol}(+) \cdot \text{dm}^{-3}$  do uzyskania jasnoróżowego zabarwienia, które powinno utrzymać się przez 1–2 minuty.

#### b) Obliczenie Hh

$$\text{Hh} = a \cdot M_{\text{NaOH}} \cdot 100 \cdot 0,1 \cdot 1,5 \quad (\text{cmol}(+) \cdot \text{kg}^{-1})$$

- a – ilość ml  $0,1 \text{ mol}(+) \cdot \text{dm}^{-3}$  NaOH zużyta do miareczkowania,  
 $M_{\text{NaOH}}$  – stężenie molowe roztworu NaOH użytego do miareczkowania,

- 100 – przeliczenie na 1 kg gleby,  
 0,1 – przeliczenie milimoli na centymole,  
 1,5 – współczynnik empiryczny na obliczenie całkowitej kwasowości hydrolitycznej z wyników jednorazowego wytrąsania z octanem.

**7. Obliczanie dawki nawozu wapniowego, potrzebnej do odkwaszenia gleby  
 – na podstawie oznaczonej Hh**

$$t \text{ CaO/ha} = \frac{Hh \cdot 0,28 \cdot 3\,000\,000}{1\,000\,000} \text{ lub } Hh \cdot 0,84$$

$$t \text{ CaCO}_3/\text{ha} = \frac{Hh \cdot 0,5 \cdot 3\,000\,000}{1\,000\,000} \text{ lub } Hh \cdot 1,5$$

- Hh – kwasowość hydrolityczna ( $\text{cmol}(+) \cdot \text{kg}^{-1}$ ),  
 0,28 – przeliczenie centymoli wodoru na centymole CaO,  
 0,5 – przeliczenie centymoli wodoru na centymole  $\text{CaCO}_3$ ,  
 3 000 000 – przeciętna masa (kg) warstwy gleby o grubości 20 cm na powierzchni 1 ha,  
 1 000 000 – zmiana gramów na tony.

W Polsce okręgowe stacje chemiczno-rolnicze w masowych badaniach potrzeb wapnowania posługują się uproszczoną metodą określającą potrzebę wapnowania i obliczania dawki wapnia na podstawie pH i składu granulometrycznego gleby. Do tego celu służą tabele pomocnicze 3 i 4.

Tabela 3. Ocena potrzeb wapnowania gleb

Potrzeba wapnowania	Kategoria agronomiczna gleby i odczyn			
	bardzo lekka	lekka	średnia	ciężka
Konieczne	do 4,0	do 4,5	do 5,0	do 5,5
Potrzebne	4,1–4,5	4,6–5,0	5,1–5,5	5,6–6,0
Wskazane	4,6–5,0	5,1–5,5	5,6–6,0	6,1–6,5
Ograniczone	5,1–5,5	5,6–6,0	6,1–6,5	6,6–7,0
Zbędne	powyżej 5,6	powyżej 6,0	powyżej 6,6	powyżej 7,1

Tabela 4. Zalecane dawki CaO na 1 ha gruntów ornych

Kategoria gleby	Potrzeba wapnowania			
	konieczne	potrzebne	wskazane	ograniczone
Bardzo lekka	3,0 (1,5)	2,0	1,0	-
Lekka	3,5 (2,0)	2,5	2,0	-
Średnia	4,5 (3,0)	3,0	2,5	1,0
Ciężka	6,0 (4,0)	4,0	3,0	1,5

### III. OZNACZANIE RÓŻNYCH FRAKCJI SKŁADNIKÓW POKARMOWYCH W GLEBIE

#### *Wstęp i definicje*

Rozwój roślin i ich plonowanie zależy od kompleksowego działania wielu czynników, do których należy światło, ciepło, powietrze, woda i składniki pokarmowe. Ostatecznie o plonie roślin decyduje czynnik występujący w ilościach minimalnych. W warunkach praktycznego rolnictwa mineralne składniki pokarmowe z uwagi na możliwość względnie łatwego i szybkiego regulowania ich ilości stanowią wolicjonalny czynnik plonotwórczy, są szczególnie monitorowane i optymalizowana jest ich ilość. Występują one w glebie w formie różnych związków głównie mineralnych, których rozpuszczalność z jednej strony jest funkcją właściwości fizykochemicznych roztworu glebowego z drugiej zaś zależy od zdolności określonych gatunków roślin do wykorzystania określonych form związków chemicznych. Dla celów rolniczych zwykle wyróżnia się następujące frakcje składników pokarmowych w glebie: **formy aktywne (dostępne)** stanowią jony i schelatowane cząsteczki danego pierwiastka występujące w roztworze wodnym gleby, **formy ruchome (przyswajalne)** to cząsteczki lub zaadsorbowane wymiennie jony znajdujące się w stałej fazie gleby, które roślina może pobrać w ciągu okresu wegetacyjnego, **formy zapasowe (niedostępne)** występują w postaci związków i zaadsorbowanych niewymiennie jonów związanych strukturalnie z fazą stałą gleby. Suma wyróżnionych frakcji stanowi **całkowitą zawartość składnika w glebie**, a jej oznaczenie jakkolwiek przydatne w pracach geologiczno-gleboznawczych, do celów rolniczo-nawozowych jest mało użyteczne, gdyż nie informuje o możliwości wykorzystania ich przez rośliny. Dla składników pokarmowych, tak makro- jak i mikropierwiastków opracowano metody biologiczne i chemiczne pozwalające na oznaczenie zawartości w glebie form przyswajalnych dla roślin. **Metody biologiczne** (pośrednie) oznaczania przyswajalnych form składników pokarmowych polegają na określeniu zasobności gleby w składniki pokarmowe na podstawie rosnących na niej roślin (ich wyglądu i składu chemicznego). **Metody chemiczne** (bezpośrednie) przewidują oznaczanie zawartości badanego składnika pokarmowego w wyciągach glebowych przy użyciu różnych roztworów ekstrakcyjnych. Metody chemiczne, pomimo pewnych trudności w doborze uniwersalnych parametrów ekstrakcji dla różnych gleb zapewniających rozpuszczenie się takich ilości składnika pokarmowego, które są rzeczywiście dostępne dla różnych gatunków roślin, powszechnie stosuje się w laboratoriach chemiczno-rolniczych. Procedury ekstrakcyjne z zastosowaniem pojedynczego eluentu umożliwiają rozpuszczanie frakcji, których zawartość pierwiastków jest skorelowana z ich przyswajalnością dla roślin. W procedurze ekstrakcji wykorzystuje się symulacje naturalnych warunków przechodzenia składników z badanej próbki bezpośrednio do roztworu. Stosowane elenty posiadają zdolność ekstrakcyjną zbliżoną do siły rozpuszczającej wydzielin korzeniowych. W otrzymanych wyciągach oznacza się stężenie badanego pierwiastka i porównuje uzyskane wyniki z liczbami granicznymi. Liczby graniczne, umożliwiające ocenę zasobności gleb, opracowane są na podstawie wyników wielu doświadczeń, w których badano reakcje roślin na określoną zawartość składnika pokarmowego w glebie.

**Zawartość i formy fosforu w glebie.** Ogólna zawartość fosforu w warstwie ornej gleb uprawnych waha się najczęściej od 0,03% do 0,15% P i zależy od rodzaju skały macierzystej, stopnia jej zwietrzienia oraz zawartości materii organicznej. Związki fosforu w glebie wystę-

pują w formie organicznej i mineralnej. W glebach mineralnych przeciętnie 30–40% fosforu ogólnego znajduje się w związkach organicznych a pozostałe 60–70% w połączeniach mineralnych.

Ze względu na dostępność fosforu dla roślin wyróżnia się trzy formy tego składnika w glebie. **Fosfor aktywny (dostępny)**, występuje w roztworze glebowym, na który składają się jony pochodzące z dysocjacji kwasu ortofosforowego:  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$ ,  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ . W warunkach glebowych o pH 4,5–7,0 przeważają w roztworze glebowym jony  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ , które są bezpośrednio pobierane przez korzenie roślin. **Fosfor ruchomy (przyswajalny)**, najczęściej są to związki rozpuszczalne w słabych kwasach takie jak: świeżo strącone bezpostaciowe fosforany glinu i żelaza ( $\text{AlPO}_4$ ,  $\text{FePO}_4$ ), wodorofosforany wapnia i magnezu ( $\text{CaHPO}_4$ ,  $\text{MgHPO}_4$ ), fosforan trójwapniowy  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ , wiwianit  $\text{Fe}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ , fosfor zasorbowany na powierzchni uwodnionych tlenków glinu i żelaza, minerałów ilastych, substancji organicznej oraz cząsteczkach  $\text{CaCO}_3$ . **Fosfor zapasowy**, mogą to być różnego rodzaju apatyty np.  $3\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot \text{Ca}(\text{OH})_2$ ,  $3\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot \text{CaF}_2$ , waryscyt  $\text{AlPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , strengit  $\text{FePO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , fosforyty  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ . Bezpośrednio dostępny dla roślin jest fosfor aktywny występujący w roztworze glebowym. Jego stężenie jest jednak zbyt niskie dla zaspokojenia potrzeb pokarmowych roślin (0,3–3 mg P · dm<sup>-3</sup> co stanowi od 1 do 3 kg P · ha<sup>-1</sup>). W czasie wegetacji zachodzić musi ciągle przechodzenie (uruchamianie) fosforu do roztworu glebowego najczęściej z ruchomych form tego składnika. Następuje to w wyniku procesów desorpcji z powierzchni cząstek stałych gleby i rozpuszczania związków fosforu. Ilość uruchamianego fosforu zależy również od odczynu ale także od wilgotności i zawartości materii organicznej w glebie. Najwięcej fosforu ruchomego znajduje się w glebach o odczynie lekko kwaśnym. W glebach o odczynie kwaśnym, a szczególnie bardzo kwaśnym lub alkalicznym dochodzi do uwsteczniania fosforu czyli spadku jego przyswajalności dla roślin.

**Zawartość i formy potasu w glebie.** Potas jest niemal całkowicie związany z mineralną częścią gleby. Zawartość potasu całkowitego w glebach uprawnych waha się od 0,8 do 2,5% K i uzależniona jest od składu mineralogicznego gleby. Wyższe zawartości tego pierwiastka wykazują gleby cięższe o dużej pojemności kompleksu sorpcyjnego. Potas występuje w glebie w trzech formach jako: **potas aktywny (dostępny)**, zawarty w roztworze glebowym, który stanowi do 0,2% form ogólnych tego pierwiastka, **potas ruchomy (wymienny)** zasorbowany na koloidach mineralnych i organicznych, który stanowi 1–2% form ogólnych, **potas zapasowy** silnie związany niewymiennie w przestrzeniach międzywarstwowych niektórych minerałów ilastych oraz związany w sieci krystalicznej pierwotnych minerałów krzemianowych i glinokrzemianowych, który może stanowić ponad 90% potasu ogólnego. Bezpośrednio wykorzystywaną przez rośliny formą potasu jest potas aktywny  $\text{K}^+$  zawarty w roztworze glebowym. Jego stężenie wynosi od 1 do 10 mg  $\text{K}^+$  w dm<sup>3</sup>. W miarę wyczerpywania tej formy potasu jest on uzupełniany głównie z formy wymiennej. Najszybciej jest on desorbowany z kompleksu sorpcyjnego ale szybkość uwalniania zależy głównie od wielkości kompleksu sorpcyjnego oraz jego wysycenia potasem. Przy bardzo małych ilościach formy aktywnej i wymiennej może dochodzić do uwalniania potasu z form silnie związanych w minerałach lub w wyniku wietrzenia minerałów zawierających potas.

**Zawartość i formy magnezu w glebie.** Zawartość magnezu w glebie wynosi od 0,05 do 0,6% Mg. **Aktywną formę magnezu** stanowią jony  $\text{Mg}^{2+}$  występujące w roztworze glebowym. Stężenia jonów  $\text{Mg}^{2+}$  są z reguły duże i wystarczają do pokrycia niewielkich potrzeb

pokarmowych roślin na zasadzie przepływu z wodą. **Forma ruchoma magnezu** obejmuje kationy adsorbowane jonowymiennie przez koloidy mineralne i organiczne. Na **formę zapasową magnezu** składa się magnez w postaci węglanów oraz związany w minerałach pierwotnych i wtórnych typu krzemianowego. Za formę przyswajalną dla roślin uważa się magnez występujący w roztworze glebowym oraz magnez wymienny w kompleksie sorpcyjnym. Za najbardziej odpowiedni ekstraktor przyswajalnego magnezu z gleby uważa się  $0,0125 \text{ mol CaCl}_2 \cdot \text{dm}^{-3}$ . Oznaczanie zawartości magnezu przyswajalnego w glebie umożliwia prawidłową ocenę jakości gleby w celu ustalenia potrzeb nawozowych. Dotyczy to głównie gleb kwaśnych wymagających wapnowania i magnezowania.

#### *Metody oznaczania*

#### ***Oznaczanie przyswajalnych form fosforu i potasu metodą Egnera-Riehma***

Metoda polega na ekstrakcji fosforu i potasu z gleby roztworem mleczanu wapnia zbuforowanym do pH ok. 3,55 i oznaczeniu w uzyskanym ekstrakcie fosforu metodą kolorymetryczną i potasu metodą fotometrii płomieniowej. Roztwór mleczanu wapnia jest dobrze zbuforowany w stosunku do jonów wodorowych, jak i jonów wapniowych, czynników wpływających w dużym stopniu na rozpuszczalność związków fosforu, zaś duża zawartość w roztworze ekstrakcyjnym, jonów wapnia i wodoru powoduje wyparcie z kompleksu sorpcyjnego wymiennych kationów potasu. Przyjmuje się, że formy fosforu i potasu ekstrahowane tym odczynnikiem stanowią pulę pierwiastków przyswajalną dla roślin.

#### Wykonanie oznaczenia

##### a) Ekstrakcja P i K z gleby

Odważyć 5,0 g gleby powietrznie suchej i przesianej przez sito o  $\varnothing 1 \text{ mm}$  do butelki o pojemności  $500 \text{ cm}^3$ , dodać  $250 \text{ cm}^3$  świeżo przygotowanego roztworu  $0,04 \text{ mol}(+) \cdot \text{dm}^{-3}$  mleczanu wapnia o pH 3,55 ( $\pm 0,05$ ). Jednocześnie przygotować kontrolną próbę „ślepą” – bez gleby. Mieszać przez 1,5 godz. na mieszadle obrotowym przy prędkości obrotowej około 40 obr./min. Następnie przesączyć przez średni sącdek, odrzucając pierwszą porcję (kilka  $\text{cm}^3$ ) przesączu, tak aby uzyskać klarowny roztwór (używać sączków bezfosforowych i bezpotasowych). Z uzyskanego przesączu pobrać 2 próbki roztworu, każda o objętości  $25 \text{ cm}^3$  – jedna do analizy fosforu, druga – do analizy potasu.

##### b) Przygotowanie roztworów wzorcowych fosforu

Do 6 kolbek stożkowych odmierzyć pipetą kolejno: 0, 1, 2, 4, 8,  $12 \text{ cm}^3$  roztworu wzorcowego zawierającego w  $1 \text{ cm}^3$   $0,01 \text{ mg P}_2\text{O}_5$ . Uzupełnić roztworem roboczym mleczanu wapnia do objętości  $25 \text{ cm}^3$ . W  $25 \text{ cm}^3$  poszczególnych roztworów (taką ilość używa się do wykreślenia krzywej wzorcowej) znajdują się następujące ilości fosforu: 0,01, 0,02, 0,04, 0,08,  $0,12 \text{ mg P}_2\text{O}_5$ . Dodać  $2 \text{ cm}^3$  roztworu mieszaniny molibdenianu amonu z fotorexem i  $1 \text{ cm}^3$  roztworu chlorku cynawego, wymieszać. Pozostawić w ciemności na 30–45 minut. W tym czasie tworzy się kompleksowy, niebiesko zabarwiony błękit fosforomolibdenowy. Barwa jest trwała w czasie do kilku godzin.

### c) Kolorymetryczne oznaczanie fosforu w przesączu

Pobrać pipetą 25 cm<sup>3</sup> badanego przesączu do kolby stożkowej o pojemności 100 cm<sup>3</sup> i dalej postępować tak jak z roztworami wzorcowymi. Pomiar intensywności barwy, najpierw roztworów wzorcowych, następnie przesączu glebowego, dokonać za pomocą spektrofotometru przy długości fali 575 nm. Na podstawie odczytów dla roztworów wzorcowych sporządzić wykres krzywej wzorcowej, a następnie z wykresu odczytać zawartość fosforu wyrażone w mg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> w 25 cm<sup>3</sup>. Zawartość fosforu wyraża się najczęściej w mg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> na 100 g gleby powietrznie suchej.

$$\text{zawartość fosforu} = \frac{a \cdot 100}{b}$$

gdzie:

a – mg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> w 25 cm<sup>3</sup>

b – masa gleby (g) odpowiadająca 25 cm<sup>3</sup> przesączu.

Otrzymaną zawartość P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> w 100 g gleby można przeliczyć na zawartość P w 100 g gleby stosując przelicznik 0,436.

### d) Przygotowanie roztworów do oznaczania potasu

Pobrać 25 cm<sup>3</sup> badanego przesączu do kolby stożkowej 100 cm<sup>3</sup>. Do 6 kolbek stożkowych odmierzyć pipetą kolejno: 0, 1, 2, 4, 8, 12 cm<sup>3</sup> roztworu wzorcowego zawierającego w 1 cm<sup>3</sup> 0,01 mg K<sub>2</sub>O. Uzupełnić roztworem roboczym mleczanu wapnia do objętości 25 cm<sup>3</sup>. W 25 cm<sup>3</sup> poszczególnych roztworów (taką ilość używa się do wykreślenia krzywej wzorcowej) znajdują się następujące ilości potasu: 0,01, 0,02, 0,04, 0,08, 0,12 mg K<sub>2</sub>O. Z wzorcami postępować dalej tak, jak z badanymi przesączami. Dodać 2 cm<sup>3</sup> roztworu kwasu szczawowego dla strącenia nadmiaru wapnia, który w dużym stopniu przeszkadza w oznaczaniu potasu. Pozostawić na kilka godzin (do drugiego dnia) w celu sedymentacji osadu szczawianu wapnia.

### e) Pomiar metodą emisyjną

Stężenie potasu we wzorcach i w przesączach oznaczać na fotometrze płomieniowym, mierząc intensywność emisji światła o długości fali charakterystycznej dla potasu. Na podstawie odczytów dla roztworów wzorcowych sporządzić wykres krzywej wzorcowej, a następnie z wykresu odczytać zawartość potasu wyrażoną w mg K<sub>2</sub>O w 25 cm<sup>3</sup>. Zawartość potasu wyraża się najczęściej w mg K<sub>2</sub>O na 100 g gleby powietrznie suchej.

$$\text{zawartość potasu} = \frac{a \cdot 100}{b}$$

gdzie:

a – mg K<sub>2</sub>O w 25 cm<sup>3</sup>

b – masa gleby (g) odpowiadająca 25 cm<sup>3</sup> przesączu.

Otrzymaną zawartość K<sub>2</sub>O w 100 g gleby można przeliczyć na zawartość K w 100 g gleby stosując przelicznik 0,830.

f) ocena zasobności gleby w przyswajalny fosfor i potas

Liczby graniczne dla fosforu (tab. 5) są jednakowe dla wszystkich agronomicznych kategorii ciężkości gleby, ponieważ mechanizm sorpcji fosforu opiera się zasadniczo na sorpcji chemicznej i procesach, niezależnych od zdolności gleby do sorpcji wymiennej i jej składu granulometrycznego.

Liczby graniczne dla potasu (tab. 5) są zróżnicowane, zależnie od kategorii ciężkości gleby, gdyż za zatrzymywanie i uwalnianie potasu odpowiedzialny jest głównie mechanizm sorpcji wymiennej kationów, a pojemność sorpcyjna gleby zależy od jej składu granulometrycznego, a zwłaszcza zawartości frakcji ilastych.

Znając klasę zasobności oraz potrzeby pokarmowe roślin, można określić dawkę nawozową.

Tabela 5. Uproszczona ocena zawartości fosforu i potasu w glebach mineralnych oznaczonych metodą Egnera-Riehma

Klasa zasobności	Ocena zawartości	mg P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> · 100 <sup>-1</sup> g gleby	mg K <sub>2</sub> O · 100 <sup>-1</sup> g gleby, dla gleb:			
			bardzo lekkich	lekkich	średnich	ciężkich
V	bardzo niska	do 5,0	do 2,5	do 5,0	do 7,5	do 10,0
IV	niska	5,1–10,0	2,6–7,5	5,1–10,0	7,6–12,5	10,1–15,0
III	średnia	10,1–15,0	7,6–12,5	10,1–15,0	12,6–20,0	15,1–25,0
II	wysoka	15,1–20,0	12,6–17,5	15,1–20,0	20,1–25,0	25,1–30,0
I	bardzo wysoka	> 20,0	> 17,5	> 20,0	> 25,0	> 30,0

Liczby graniczne, określające stopień zasobności gleb w fosfor i potas, stosowane w Stacjach Chemiczno-Rolniczych, odnoszą się wyłącznie do tej metody ekstrakcji.

**Sprzęt:** waga laboratoryjna, mieszadło rotacyjne, spektrofotometr UV/VIS, fotometr płomieniowy.

**Szkło i akcesoria:** butelki plastikowe o pojemności 500 cm<sup>3</sup> z korkami lub szczelnymi zakrętkami, kolby stożkowe do sączenia zawiesiny, lejki, sączki, pipeta 25 cm<sup>3</sup> do odmierzania przesącza, tryskawka z H<sub>2</sub>O destylowaną, kolby stożkowe 100 cm<sup>3</sup>.

**Odczynniki:** *Mleczanu wapnia zapasowy* (0,8 mol(+) · dm<sup>-3</sup> roztwór mleczanu wapnia w 0,4 mol HCl · dm<sup>-3</sup>). Odważyć 120 g mleczanu wapnia Ca(CH<sub>3</sub>CHOHCOO)<sub>2</sub> · 5 H<sub>2</sub>O rozpuścić w ok. 750 cm<sup>3</sup> gorącej wody destylowanej. Dodać 40 cm<sup>3</sup> 10 mol HCl · dm<sup>-3</sup> (przygotowanego przez dopełnienie 82,5 cm<sup>3</sup> stężonego HCl wodą destylowaną do 100 cm<sup>3</sup>). Podgrzać do rozpuszczenia (nie dopuszczając do wrzenia!). Ostudzić, uzupełnić do kreski (do 1000 cm<sup>3</sup>) wodą destylowaną. Przenieść do butelki z ciemnego szkła. Do utrwalenia roztworu dodać 3 krople chloroformu. Roztwór jest trwały przez ok. 1 tydzień.

*Roztwór roboczy mleczanu wapnia.* Odmierzyć 50 cm<sup>3</sup> roztworu zapasowego mleczanu wapnia rozcieńczyć wodą destylowaną do 1 dm<sup>3</sup>, jego pH powinno wynosić 3,55. Odczynnik musi być codziennie świeżo przygotowany.

*Molibdenian amonu zapasowy.* Odważyć 50 g molibdenianu amonu (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub> · 4H<sub>2</sub>O rozpuścić w ok. 800 cm<sup>3</sup> wody destylowanej, ogrzać do max. 60°C. Po ostudzeniu dopełnić wodą do 1000 cm<sup>3</sup>. Wymieszać, przenieść do butelki z ciemnego szkła. Roztwór jest trwały.



*Roztwór roboczy molibdenianu amonu.* Odmierzyć 300 cm<sup>3</sup> roztworu zapasowego wymieszać z 500 cm<sup>3</sup> wody destylowanej, przechowywać w butelce z ciemnego szkła.

*Fotoreks zapasowy.* Odważyć 2 g metolu (siarczan n-metylo-p-aminofenolu) + 10 g Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> (lub 20 g Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> · 7H<sub>2</sub>O) + 300 g pirosiarczynu sodu (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) i rozpuścić w ok. 800 cm<sup>3</sup> wody destylowanej, lekko podgrzać, a po ostudzeniu dopełnić do 1000 cm<sup>3</sup>. Wymieszać i przenieść do butelki z ciemnego szkła. Roztwór jest trwały.

*Roztwór roboczy fotoreksu.* Odmierzyć 300 cm<sup>3</sup> roztworu zapasowego i wymieszać z 500 cm<sup>3</sup> wody destylowanej. Przechowywać w butelce z ciemnego szkła.

*Mieszanina molibdenianu z fotoreksem.* Zmieszać roztwór roboczy molibdenianu amonu z roztworem roboczym fotoreksu w stosunki 1:1. Mieszanina nadaje się do użycia tylko przez kilka godzin.

*Roztwór chlorku cynawego.* Odważyć 0,35 g SnCl<sub>2</sub> · 2H<sub>2</sub>O (lub 0,29 g bezwodnego SnCl<sub>2</sub>) rozpuścić w 55 cm<sup>3</sup> 10 mol HCl · dm<sup>-3</sup>. Uzupełnić do 100 cm<sup>3</sup> wodą destylowaną. Roztwór należy przygotować bezpośrednio przed użyciem.

*10% roztwór kwasu szczawowego.* Odważyć 100 g H<sub>2</sub>C<sub>2</sub>O<sub>4</sub> · 2H<sub>2</sub>O rozpuścić w wodzie destylowanej w kolbie miarowej 1000 cm<sup>3</sup> i dopełnić do kreski miarowej.

*10 mol · dm<sup>-3</sup> roztwór kwasu solnego.* Odmierzyć 823 cm<sup>3</sup> stężonego HCl (d=1,19 g · cm<sup>-3</sup>) rozcieńczyć wodą destylowaną do 1000 cm<sup>3</sup>.

*Roztwory wzorcowe P i K:*

*roztwór zapasowy A.* Odważyć 1,917 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> i 0,534 g KCl do kolby miarowej o pojemności 1000 cm<sup>3</sup>, rozpuścić w wodzie destylowanej, dodać 2–3 krople formaliny, uzupełnić wodą do kreski miarowej i dokładnie wymieszać. W 1 cm<sup>3</sup> tego roztworu znajduje się 1,0 mg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> i 1,0 mg K<sub>2</sub>O.

*roztwór zapasowy B.* Odmierzyć 100 cm<sup>3</sup> roztworu wzorcowego zapasowego A, przenieść do kolby miarowej o pojemności 1000 cm<sup>3</sup> i uzupełnić wodą destylowaną do kreski miarowej, dokładnie wymieszać. W 1 cm<sup>3</sup> tego roztworu znajduje się 0,1 mg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> i 0,1 mg K<sub>2</sub>O.

*roztwór wzorcowy roboczy.* Pobrać pipetą 50 cm<sup>3</sup> roztworu zapasowego B do kolby miarowej na 500 cm<sup>3</sup>, uzupełnić roztworem mleczanu wapnia do ekstrakcji do kreski miarowej i dokładnie wymieszać. W 1 cm<sup>3</sup> tego roztworu znajduje się 0,01 mg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> i 0,01 mg K<sub>2</sub>O.

### ***Oznaczanie przyswajalnego magnezu w glebie metodą Schachtschabela***

Metoda polega na ekstrakcji magnezu z gleby roztworem 0,0125 mol CaCl<sub>2</sub> · dm<sup>-3</sup>, przy stosunku gleby do roztworu m:v wynoszącym 1:10. Jon wapniowy wypiera z [K.S.G.] jon magnezowy. Przeprowadzony do roztworu magnez oznacza się po zalkalizowaniu przesączu kolorymetrycznie za pomocą żółcieni tytanowej. Żółcień tytanowa w środowisku alkalicznym tworzy z magnezem kompleksowe połączenie o charakterze laku czerwonej barwy, które utrzymuje się w roztworze za pomocą koloidu ochronnego. Zawartość magnezu oznacza się kolorymetrycznie. Wcześniej należy zmierzyć intensywność zabarwienia roztworów wzorcowych. Liczby graniczne określające stopień zasobności gleb w przyswajalny magnez, stosowane w Stacjach Chemiczno-Rolniczych, odnoszą się wyłącznie do tej metody ekstrakcji.



## Wykonanie analizy

### a) Ekstrakcja Mg z gleby

Odważyć 5,00 g gleby powietrznie suchej, przesianej przez sito o  $\varnothing$  1 mm i umieścić w butelce plastikowej o pojemności co najmniej 200 cm<sup>3</sup>. Zadać 50 cm<sup>3</sup> roztworu 0,0125 mol CaCl<sub>2</sub> · dm<sup>-3</sup> i wytrząsać przez 2 godz. na mieszadło rotacyjnym przy prędkości obrotowej około 40 obr./min. Po tym czasie przesączyć przez twardy sączek, odrzucając pierwsze krople przesączu, tak aby uzyskać klarowny roztwór. Następnie odmierzyć 10 cm<sup>3</sup> przesączu do kolby stożkowej o pojemności 100 cm<sup>3</sup>, dodać 40 cm<sup>3</sup> mieszaniny reagującej i dobrze wymieszać.

### b) Przygotowanie roztworów wzorcowych

Do pięciu kolbek stożkowych o pojemności 100 cm<sup>3</sup> każda odmierzyć kolejno po 10 cm<sup>3</sup> roztworów wzorcowych roboczych, dodać 40 cm<sup>3</sup> mieszaniny reagującej i dobrze wymieszać. W 10 cm<sup>3</sup> tych roztworów znajdują się następujące ilości magnezu: 0; 0,02; 0,05; 0,10; 0,15 mg.

### c) Ilościowe oznaczenie magnezu w przesączu

Po upływie 30 minut, od dodania mieszaniny reagującej, zmierzyć intensywność zabarwienia roztworów wzorcowych i badanego przesączu glebowego na fotokolorymetrze przy długości fali 545 nm, wobec ślepej próby. Pomiar należy zakończyć przed upływem 90 minut od momentu potraktowania roztworu mieszaniną reagującą. Na podstawie odczytów dla roztworów wzorcowych sporządzić wykres krzywej wzorcowej, a następnie z wykresu odczytać zawartość magnezu w przesączu wyrażoną w mg Mg w 25 cm<sup>3</sup>. Zawartość magnezu wyraża się najczęściej w mg Mg na 100 g gleby powietrznie suchej.

$$\text{zawartość magnezu} = \frac{a \cdot 100}{b}$$

gdzie:

a – mg Mg w 25 cm<sup>3</sup>

b – masa gleby (g) odpowiadająca 25 cm<sup>3</sup> przesączu.

### d) Ocena stopnia zasobności gleby w przyswajalny magnez

Liczby graniczne dla magnezu są zróżnicowane zależnie od kategorii ciężkości gleby, gdyż za zatrzymywanie w glebie i uwalnianie magnezu odpowiedzialny jest głównie mechanizm sorpcji wymiennej kationów, a pojemność sorpcyjna gleby zależy od jej składu granulometrycznego (tab. 6).

**Sprzęt:** waga laboratoryjna, mieszadło rotacyjne, spektrofotometr UV|VIS.

**Szkło i akcesoria:** butelki plastikowe o pojemności co najmniej 200 cm<sup>3</sup>, kolby stożkowe do sączenia zawiesiny, lejki, sączki twarde, kolby miarowe do sporządzenia wzorców.

**Odczynniki:** 0,0125 M chlorek wapnia. Odważyć 1,39 g CaCl<sub>2</sub> bezwodnego (albo 1,84 g CaCl<sub>2</sub> · 2 H<sub>2</sub>O lub 2,74 g CaCl<sub>2</sub> · 6 H<sub>2</sub>O), rozpuścić w wodzie i dopełnić (w kolbie miarowej) do 1000 cm<sup>3</sup>.

Tabela 6. Ocena zawartości magnezu w glebach mineralnych, na podstawie ekstrakcji metodą Schachtschabela

Klasa zawartości	Ocena zawartości	mg Mg/100g <sup>1</sup> gleby, dla gleb:			
		bardzo lekkich	lekkich	średnich	ciężkich
V	bardzo niska	do 1,0	do 2,0	do 3,0	do 4,0
IV	niska	1,1–2,0	2,1–3,0	3,1–5,0	4,1–6,0
III	średnia	2,1–4,0	3,1–5,0	5,1–7,0	6,1–10,0
II	wysoka	4,1–6,0	5,1–7,0	7,1–9,0	10,1–14,0
I	bardzo wysoka	> 6,0	> 7,0	> 9,0	> 14,0

2% roztwór alkoholu poliwinylowego. Zmieszać 20 g alkoholu poliwinylowego z 100 cm<sup>3</sup> gliceryny w zlewce o pojemności 500 cm<sup>3</sup>. Dodać około 400 cm<sup>3</sup> gorącej wody destylowanej. Ogrzewać stale, poruszając zlewką, do temp. ok. 90°C aż do zupełnego rozpuszczenia. Po ostygnięciu rozcieńczyć wodą do objętości 1000 cm<sup>3</sup>, wymieszać i przesączyć. Roztwór przechowywać w butelce z ciemnego szkła.

0,05% roztwór żółci tytanowej. Odważyć 125 mg żółci tytanowej („Merck” do oznaczania magnezu) do kolby miarowej i uzupełnić wodą destylowaną do 250 cm<sup>3</sup>.

3 mol·dm<sup>-3</sup> roztwór NaOH. Odważyć 120 g NaOH do kolby miarowej i uzupełnić wodą destylowaną do objętości 1000 cm<sup>3</sup>.

Mieszanka reagująca. Zmieszać w stosunku objętościowym 5:1:1 wodę destylowaną, alkohol poliwinylowy, żółci tytanową i wodorotlenek sodu, mieszając każdorazowo po dodaniu odczynnika. Mieszaninę sporządzać każdorazowo bezpośrednio przed użyciem.

1 mol HCl·dm<sup>-3</sup>. Odmierzyć 82,3 cm<sup>3</sup> HCl (d=1,19 g·cm<sup>-3</sup>) i przenieść do kolby miarowej o pojemności 1000 cm<sup>3</sup> (napęlnionej do połowy wodą destylowaną), uzupełnić do kreski miarowej wodą destylowaną i wymieszać.

Roztwory wzorcowe magnezu:

roztwór wzorcowy zapasowy. Odważyć 2,475 g MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, rozpuścić w 35 cm<sup>3</sup> 1 mol HCl·dm<sup>-3</sup> i uzupełnić do 1000 cm<sup>3</sup> wodą destylowaną. W 1 cm<sup>3</sup> tego roztworu znajduje się 0,5 mg Mg.

roztwory wzorcowe robocze. Odmierzyć kolejno: 0, 4, 10, 20, 30 cm<sup>3</sup> roztworu wzorcowego zapasowego i uzupełnić 0,0125 mol CaCl<sub>2</sub>·dm<sup>-3</sup> do objętości 1000 cm<sup>3</sup>. W 10 cm<sup>3</sup> tych roztworów znajdują się następujące ilości magnezu: 0, 0,02, 0,05, 0,10, 0,15 mg.

#### Analiza specjacyjna pierwiastków śladowych (metali ciężkich)

Całkowita (ogólna) zawartość pierwiastków szczególnie metali ciężkich nie określa ich biodostępności i wynikających z tego zagrożeń dla organizmów żywych. Znacznie więcej informacji można uzyskać wykonując analizę specjacyjną np. wg metody Tessiera lub BCR. Według definicji IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*), badania specjacyjne prowadzą do identyfikacji i/lub zmierzenia ilości jednej lub więcej form chemicznych danego metalu w próbce. Specjację definiuje się jako występowanie w badanym obiekcie tego samego pierwiastka chemicznego w różnych postaciach różniących się własnościami fizykochemicznymi i działaniem fizjologicznym. Metody oznaczania poszczególnych frakcji metali ciężkich w próbkach stałych opierają się na: **jednoetapo-**

**wym ługowaniu** (ekstrakcja pojedyncza) za pomocą roztworu symulującego naturalne warunki przechodzenia metali z osadów lub gleb do wód (roztworu glebowego) i roślin, **wieloetapowym ługowaniu** za pomocą serii roztworów o wzrastającej agresywności. Ekstrakcje wieloetapowe mogą być realizowane metodą ekstrakcji sekwencyjnych lub równoległych. Ekstrakcje sekwencyjne polegają na kolejnym roztwarzaniu faz mineralnych i organicznych, a tym samym uwalnianiu związanych z nimi metali ciężkich. Ługowanie zachodzi w warunkach symulujących zarówno naturalne, jak i antropogeniczne zmiany środowiskowe. Ekstrakcje równoległe mają na celu eliminację wpływu wcześniej użytych ekstrahentów na wynik kolejnych ekstrakcji oraz skrócenie procesu frakcjonowania.

### Oznaczanie wybranych frakcji składników metodą Tessiera i BCR

Ekstrakcję sekwencyjną metodą Tessiera i metodą BCR (*Community Bureau of Reference*) prowadzi się z wykorzystaniem roztworów o rosnącej sile ługowania metali według następującego schematu (tab. 7). Stosowanie metody BCR ma aspekt ekonomiczny, pozwala stosować mniejsze ilości odczynników, a także znacząco skraca czas trwania procedury

Tabela 7. Schemat ekstrakcji sekwencyjnej metodą BCR i Tessiera

BCR	Tessier i wsp.
1 g próbka gleby	
F1 Frakcja jonowymienna i węglanowa 16 godz. 22°C ± 5°C Ciągłe mieszanie 40 cm <sup>3</sup> 0,11 M CH <sub>3</sub> COOH	F1 Frakcja jonowymienna 2 x 0,5 godz. Ciągłe mieszanie 8 cm <sup>3</sup> 0,1 M MgCl <sub>2</sub> (pH=7)
F2 Frakcja tlenkowa 16 godz. 22°C ± 5°C Ciągłe mieszanie 40 ml 0,1 M NH <sub>2</sub> OH·HCl pH=2 (pH=2, doprowadzano HNO <sub>3</sub> )	F2 Frakcja węglanowa 5 godz. Ciągłe mieszanie 8 cm <sup>3</sup> 1 M CH <sub>3</sub> COONa (pH=5)
F3 Frakcja organiczna 1) 2 godz. łaźnia wodna 85 ± 2°C 10 cm <sup>3</sup> H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (8,8 mol·dm <sup>-3</sup> ) (2 razy) pH=2 lub pH=3 2) 16 godz. 22°C ± 5°C Ciągłe mieszanie 50 ml 1 M CH <sub>3</sub> COONH <sub>4</sub> (pH=2, doprowadzane HNO <sub>3</sub> )	F3 Frakcja związana z tlenkami żelaza i manganu ogrzewano 96 ± 3°C przez 5 godz. 20 cm <sup>3</sup> 0,04 M NH <sub>2</sub> OH·HCl w 25% CH <sub>3</sub> COONa (pH=2)
F4 Frakcja rezydualna np.: mineralizacja mieszaniną stężonych kwasów HF, HNO <sub>3</sub> , HClO <sub>4</sub>	F4 Frakcja organiczna 1) 2 godz. łaźnia wodna 85 ± 2°C 3 ml 0,02 M HNO <sub>3</sub> + 5 ml 30% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (pH=2) 2) 3 godz. łaźnia wodna 85 ± 2°C 3 cm <sup>3</sup> 30% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 3) po schłodzeniu 0,5 godz. ciągłe mieszanie 5cm <sup>3</sup> 3,2 M CH <sub>3</sub> COONH <sub>4</sub> rozpuszczonego w 20% HNO <sub>3</sub>
	F5 Frakcja rezydualna HCl+HNO <sub>3</sub> (1:3)

analitycznej. W uzyskanych frakcjach rozpuszczalności pierwiastków ich zawartość oznacza się rutynowymi metodami.

**Oznaczanie zawartości form rozpuszczalnych w 1 mol HCl · dm<sup>-3</sup> – roztwór Rinkisa mikropierwiastków (według procedury IUNG i Stacji Chemiczno-Rolniczych)**

Metoda polega na ekstrakcji ważnych dla roślin mikropierwiastków z gleby roztworem 1 M HCl, przy stosunku gleby do roztworu 1:10, oznaczeniu ich ilości metodą absorpcyjnej spektrofotometrii atomowej (AAS) i wyrażeniu jej w mg · kg<sup>-1</sup> gleby. Oceny zasobności gleby w mikroelementy (B, Mn, Cu i Zn) dokonuje się w oparciu o liczby graniczne, zależne od odczynu i kategorii ciężkości gleby (tab. 8, 9, 10 i 11).

Tabela 8. Ocena zawartości boru w wyciągu glebowym (1 mol HCl · dm<sup>-3</sup>)

Ocena zawartości	pH w KCl 1 mol · dm <sup>-3</sup>			
	do 4,5	4,6–5,5	5,6–6,5	od 6,5
Niska	< 0,8	< 1,0	< 1,3	< 2,2
Średnia	0,8–2,6	1,0–3,2	1,3–4,3	2,2–7,2
Wysoka	> 2,6	> 3,2	> 4,3	> 7,2

Tabela 9. Ocena zawartości manganu w wyciągu glebowym (1 mol HCl · dm<sup>-3</sup>)

Klasa zawartości	pH w KCl 1 mol · dm <sup>-3</sup>					
	< 4,5			4,6–5,0		
	Kategoria agronomiczna gleby					
	lekka	średnia	ciężka	lekka	średnia	ciężka
Niska	< 13	< 16	< 18	< 21	< 28	< 40
Średnia	13–130	16–160	18–180	21–210	28–280	40–390
Wysoka	>130	>160	>180	>210	>280	>390
	pH w KCl 1 mol · dm <sup>-3</sup>					
	5,1–5,5			> 5,6		
Niska	<30	<50	<75	<40	<85	<110
Średnia	30–310	50–510	75–750	40–400	85–830	110–1100
Wysoka	>310	>510	>750	>400	>830	>1100

*Wykonanie analizy*

Odważyć 5,0 g gleby powietrznie suchej i przesianej przez sito o  $\varnothing$  2 mm do plastikowych butelek o pojemności co najmniej 200 cm<sup>3</sup>. Dodać 50 cm<sup>3</sup> roztworu 1 mol HCl · dm<sup>-3</sup> i mieszać zawartość przez 1 godz. na mieszadłe rotacyjnym z szybkością ok. 40 obr./ min. Następnie przesączyć zawartość do plastikowych butelek lub kolb stożkowych o objętości 100 cm<sup>3</sup>, odrzucając pierwsze krople przesączu. Zawartości metali w ekstraktach oznaczać metodą atomowej spektrofotometrii absorpcyjnej, na spektrofotometrze AAS, wobec przygotowanych wzorców. Oznaczone stężenia przelicza się na zawartość w mg · kg<sup>-1</sup> gleby:

$$Me_{\text{HCl}} = 10 \cdot a \text{ (mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ gleby)}$$

gdzie:

$Me_{\text{HCl}}$  – zawartość w glebie form pierwiastka rozpuszczalnych w 1 M HCl ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),

$a$  – odczyt w jednostkach stężenie metalu w ekstrakcie ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),

10 – przelicznik na 1 kg gleby.

Tabela 10. Ocena zawartości miedzi w wyciągu glebowym ( $1 \text{ mol HCl} \cdot \text{dm}^{-3}$ )

Ocena zawartości	Kategoria agronomiczna gleby			
	b. lekka	lekka	średnia	ciężka
Niska	< 0,9	< 1,6	< 2,3	< 5,0
Średnia	0,9–2,5	1,6–4,9	2,3–6,7	5,0–15,0
Wysoka	> 2,5	> 4,9	> 6,7	> 15,0

Tabela 11. Ocena zawartości cynku w wyciągu glebowym ( $1 \text{ mol HCl} \cdot \text{dm}^{-3}$ )

Ocena zawartości	Kategoria agronomiczna gleby			
	b. lekka	lekka	średnia	ciężka
Niska	< 0,7	< 1,4	< 4,6	< 11,5
Średnia	0,7–3,3	1,4–6,3	4,6–20,5	11,5–51,1
Wysoka	> 3,3	> 6,3	> 20,5	> 51,1

**Sprzęt:** waga laboratoryjna, mieszadło rotacyjne, spektrofotometr absorpcji atomowej AAS.

**Szkló i akcesoria:** butelki plastikowe o pojemności co najmniej  $200 \text{ cm}^3$  z korkami lub szczelnymi zakrętkami, butelki lub kolby stożkowe  $100 \text{ cm}^3$  do sączenia zawiesiny, lejki, sączki twarde.

**Odczynniki:**  $1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  kwas solny. Odmierzyć cylindrem miarowym (o pojemności  $100 \text{ cm}^3$ ) objętość  $82,3 \text{ cm}^3$  stężonego HCl ( $d = 1,19 \text{ g} \cdot \text{cm}^3$ ) i rozcieńczyć  $\text{H}_2\text{O}$  do  $1000 \text{ cm}^3$ . Wszystkie czynności wykonywać pod wyciągiem.

*Roztwory wzorcowe oznaczanych metali.*

## IV. OZNACZANIE SKŁADU CHEMICZNEGO WODY GLEBOWEJ

### *Wstęp i definicje*

Woda występująca w ekosystemie glebowym nie jest czystym związkiem chemicznym lecz mieszaniną wieloskładnikową i wielofazową, zawierającą roztwory różnych soli, substancje koloidalne pochodzenia organicznego i mineralnego oraz różne gazy. Rodzaj i ilość tych domieszek nawiązuje przede wszystkim do rodzaju skał podłoża, w których dobywa się krążenie wód śródpokrywowych. Zmienia się on nieustannie w trakcie przepływu wody opadowej w głębsze warstwy gleby, gdyż jest ona rozpuszczalnikiem dla wielu substancji występujących w środowisku glebowym. Rozpatrując przeważający, w dłuższym okresie czasu, kierunek ruchu wody w glebie można wyróżnić przemieszczanie się jej ku górze (typ ewaporacyjny), w dół (typ perkolacyjny) lub charakteryzujący się zmiennymi kierunkami typ zrównoważony gospodarki wodnej. Ruch wody ku górze jest charakterystyczny dla klimatu suchego (aridowego) i jest przyczyną zasolenia powierzchniowych poziomów gleby. Typ przemywny gospodarki wodnej w glebie występuje w warunkach klimatu wilgotnego (humidowego) na przepuszczalnych glebach i jest przyczyną ich odgórnego zakwaszenia.

Terenowy pomiar przemieszczania wody w glebie nastęrcza duże trudności metodyczne i polega na monitorowaniu wilgotności gleby w długim okresie czasu w obrębie odpowiednio dużego pedonu glebowego. Uzyskane wyniki pomiarów wilgotności przedstawia się w formie wykresu, na którego osi odciętych zaznacza się kolejne terminy pomiarów, na osi rzędnych głębokość pomiarów, zaś oznaczoną wilgotności (w przyjętych przedziałach wilgotności) nanosi się na wykres w postaci ciągu punktów łączonych następnie krzywą (chronoizopleta), a powierzchnię pomiędzy chronoizopletami wypełnia się szrafurą. Z dynamicznymi zmianami wilgotności, różnych pod względem uziarnienia gleby, wiąże się nie tylko ilość dostępnej dla roślin wody glebowej ale również zmiany stężenia rozpuszczalnych w wodzie składników, które mogą ulegać wytrącaniu bądź rozpuszczaniu. W glebach gliniastych woda dostępna dla roślin zajmuje objętość około 20%, zaś w glebach piaszczystych około 5% objętości gleby o nienaruszonej strukturze i odzwierciedla zmiany stężenia roztworu glebowego.

Skład fizyczno-chemiczny wody glebowej jest bardzo złożony i oznaczenie wszystkich domieszek oraz ewentualnych zanieczyszczeń chemicznych jest praktycznie niemożliwe, gdyż w wyniku rozwoju cywilizacyjnego w sposób nieograniczony zwiększa się liczba rozmaitych substancji chemicznych występujących w środowisku. Dlatego w badaniach wody glebowej ustala się zakres badań przewidywanych dla różnych siedlisk uwzględniając sposób ich zagospodarowania i użytkowania. Z rolniczego punktu widzenia skład chemiczny wody glebowej odnosi się zazwyczaj do określonej masy gleby, zaś w ujęciu środowiskowym wyraża w jednostkach stężenia określonej objętości odcieków – drenarskich w badaniach polowych oraz lizymetrycznych w modelowych badaniach laboratoryjnych.

Klasyczne metody bezpośrednich oznaczeń (miareczkowe, wagowe) w ostatnim czasie są zastępowane zwłaszcza w oznaczeniach rutynowych metodami pośrednimi przy użyciu technik chromatograficznych i metod spektrofotometrycznych.

## Metody badań

### Oznaczanie suchej pozostałości

Sucha pozostałość jest to masa substancji pozostałej po odparowaniu wody, wysuszona do stałej wagi w temperaturze 105° i przedstawiona w mg na 1 dm<sup>3</sup> wody. W jej skład wchodzi związek nieorganiczny jak i organiczny tworzące roztwór właściwy i koloidalny.

### Oznaczanie pozostałości po prażeniu

Suchą pozostałość praży się w temperaturze 550°C do stałej wagi i określa masę. Podczas prażenia w tej temperaturze związki organiczne ulegają mineralizacji, a związki mineralne rozkładowi – utlenieniu. Pozostałość po prażeniu przelicza się w mg na 1 dm<sup>3</sup> wody. Z różnicy suchej pozostałości i pozostałości po prażeniu oblicza się **straty podczas prażenia** w mg na 1 dm<sup>3</sup> wody.

### Oznaczanie zasolenia roztworu wodnego gleby metodą konduktometryczną

Metoda polega na pomiarze konduktywności / (oporu) ekstraktu roztworu glebowego. Przewodzenie prądu elektrycznego w roztworze (elektrolicie) zależne jest od wszystkich jonów będących w roztworze i reakcji chemicznych, jakie między nimi zachodzą oraz temperatury. Z wielkości przewodnictwa właściwego wody wyznaczą zawartość substancji w niej rozpuszczonych stosując uprzednio wyznaczoną krzywą, przedstawiającą zależność przewodnictwa właściwego od stężenia substancji rozpuszczonych w wodzie lub stosując współczynnik przeliczeniowy 0,75 i wyraża w jednostkach odwrotności oporu  $\Omega^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$  lub simensach  $\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$ .

### Wykonanie oznaczenia

Naważkę gleby – 50 g w zlewce na 300 cm<sup>3</sup> zadaje się wodą destylowaną, zazwyczaj stosunek powietrznie suchej masy gleby do masy wody wynosi 1:2,5 (podobnie jak



Fot. 4. Zestaw konduktometryczny: a – elektroda pomiarowa, b – wyświetlacz cyfrowy, c – zespół elementów pomiarowych w obudowie.

w przypadku oznaczania odczynu gleby), sporządza zawiesinę i pozostawia na 24 godziny. W wielu laboratoriach stosuje się inne rozcieńczenia od *pasty nasyconej* – roztwór wodny gleby o wilgotności odpowiadającej jej podwójnej połowej pojemności wodnej, nawiązujący do warunków wodno-glebowych z jakimi spotykają się rośliny, do 1:10. Po tym czasie dokonuje się pomiaru przewodnictwa elektrycznego a jego wartość odczytuje się bezpośrednio ze skali konduktometru (fot. 4).

Oznaczenie wymaga cechowania naczynka pomiarowego (oznaczenia jego stałej), które wykonuje się przy użyciu elektrolitu o znanym przewodnictwie właściwym.

### **Oznaczenie zawartości chlorków metodą Mohra (miareczkowanie argentometryczne)**

Metoda polega na miareczkowaniu jonów chlorkowych azotanem srebrowym wobec chromianu potasowego jako wskaźnika. W roztworach obojętnych i słabo zasadowych azotan srebrowy strąca najpierw biały osad chlorku srebrowego i po całkowitym strąceniu jonów chlorkowych kation srebrowy reaguje z chromianem potasowym, wytrącając czerwono-brunatny osad chromianu srebrowego. Zmiana zabarwienia z żółtozielonego na żółto-brunatne świadczy o całkowitym zrównoważeniu anionów chlorkowych.

#### a) Wykonanie oznaczenia

Do kolby stożkowej o pojemności 300 cm<sup>3</sup> należy odmierzyć 100 cm<sup>3</sup> wody. Następnie dodać 1 cm<sup>3</sup> roztworu K<sub>2</sub>CrO<sub>4</sub> i miareczkować roztworem AgNO<sub>3</sub> do zmiany barwy na żółto-brunatną. Wynik miareczkowania skorygować przez odjęcie „poprawki” – 0,3 cm<sup>3</sup> AgNO<sub>3</sub> na wytworzenie Ag<sub>2</sub>CrO<sub>4</sub> w objętości 100 cm<sup>3</sup> wody destylowanej.

#### b) Obliczenia

Obliczenie zawartości chloru w wodzie należy wykonać według następującego wzoru:

$$X = \frac{(a - 0,3) \cdot 1000}{v}$$

a – objętość mianowanego roztworu azotanu srebra (cm<sup>3</sup>)

0,3 – ilość mianowanego roztworu azotanu srebra zużyta na wytworzenie chromianu srebrowego w objętości 100 cm<sup>3</sup> wody destylowanej (cm<sup>3</sup>)

v – objętość próby wody użytej do oznaczenia (cm<sup>3</sup>)

**Odczynniki:** *Roztwór chlorku sodowego:* odważyć 1,6486 g NaCl (ch. cz.), wysuszonego do stałej wagi w temperaturze 130°C i rozpuścić w kolbie miarowej o pojemności 1 dm<sup>3</sup> w wodzie redestylowanej i dopełnić do znaku. W 1 cm<sup>3</sup> tego roztworu znajduje się 1 mg jonów chlorkowych.

*Roztwór 10-procentowego chromianu potasowego:* rozpuścić 10 g K<sub>2</sub>CrO<sub>4</sub> w wodzie i dopełnić do znaku w kolbie miarowej na 100 cm<sup>3</sup> wodą destylowaną.

*Roztwór azotanu srebrowego:* odważyć 4,791 g AgNO<sub>3</sub>, rozpuścić w wodzie redestylowanej i dopełnić do znaku w kolbie miarowej o pojemności 1 dm<sup>3</sup>. 1 cm<sup>3</sup> tego roztworu powinien odpowiadać 1 mg Cl<sup>-</sup>. Należy ustalić miano roztworu azotanu srebra wobec roztworu chlorku sodowego. W tym celu odmierzamy 10 cm<sup>3</sup> mianowanego roztworu NaCl, dodajemy 1 cm<sup>3</sup> roztworu K<sub>2</sub>CrO<sub>4</sub> i miareczkujemy mianowanym roztworem AgNO<sub>3</sub> do



zmiany zabarwienia na żółtobrunatne. Od ilości zużytych  $\text{cm}^3$  roztworu azotanu srebra należy odjąć poprawkę  $0,3 \text{ cm}^3$  na wytworzenie  $\text{Ag}_2\text{CrO}_4$  w objętości  $100 \text{ cm}^3$  wody redetylowanej.

**Oznaczanie zawartości siarczanów metodą wagową**  
**(PN-74/C-04566. 09)**

Metoda polega na wytrąceniu z wody jonów siarczanowych jonami barowymi w środowisku kwasu solnego, a następnie oznaczeniu ich masy i obliczeniu zawartości siarczanów.

a) Wykonanie oznaczenia

Do  $100 \text{ cm}^3$  wody dodać kilka kropeł metyloranżu (wskaźnik) i kwasu solnego (1:1) do uzyskania różowego zabarwienia, po czym dodać jeszcze  $3 \text{ cm}^3$  kwasu solnego (1:1) i  $5 \text{ cm}^3$  10% roztworu chlorku amonowego, następnie roztwór zagotować i przesączyć. W przypadku zmętnienia wywołanego obecnością krzemionki lub kwasów humusowych należy roztwór przesączyć przez gęsty sączek i przemyć gorącym rozcieńczonym kwasem solnym. Zebrany przesącz ponownie doprowadzić do wrzenia i dodać kroplami  $5 \text{ cm}^3$  10% roztworu chlorku barowego, po czym ogrzewać na łaźni wodnej w czasie 1 godziny, a następnie pozostawić w temperaturze pokojowej na 8–12 godzin. Po tym czasie odsączyć siarczan barowy przez twardy, bezpopiołowy, ilościowy sączek i przemyć małymi porcjami wody destylowanej do zaniku reakcji na jony chlorkowe w przesączu. Sączek z osadem umieścić w wytarowanym tyglu, wysuszyć w temperaturze  $105^\circ\text{C}$ , ostrożnie spalić w możliwie niskiej temperaturze, a następnie wyprażyć pozostałość do stałej wagi w temperaturze  $800^\circ\text{C}$ . Tygiel schłodzić w eksykatorze i ustalić masę osadu.

b) Obliczenia

Zawartość siarczanów (w  $\text{mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ ) obliczyć ze wzoru:

$$X = \frac{a \cdot 0,4114 \cdot 1000}{v}$$

w którym:

- a – masa osadu siarczanu barowego (mg),
- 0,4114 – współczynnik przeliczeniowy  $\text{BaSO}_4$  na  $\text{SO}_4^{2-}$ ,
- v – objętość próby wody użytej do oznaczenia ( $\text{cm}^3$ ).

**Odczynniki:** *Roztwór 10% chlorku baru:* rozpuścić 10 g  $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (ch. cz.) w wodzie i dopełnić do znaku w kolbie miarowej na  $100 \text{ cm}^3$  wodą destylowaną.

*Kwas solny (1:1):* zmieszać stężony kwas solny z wodą destylowaną w proporcji objętościowej 1:1.

*Roztwór 10% chlorku amonowego:* rozpuścić 10 g  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (ch. cz.) w wodzie i dopełnić do znaku w kolbie miarowej na  $100 \text{ cm}^3$  wodą destylowaną.

*Rozcieńczony kwas solny:* rozcieńczyć  $5 \text{ cm}^3$  kwasu solnego (1:1) wodą destylowaną do  $100 \text{ cm}^3$ .

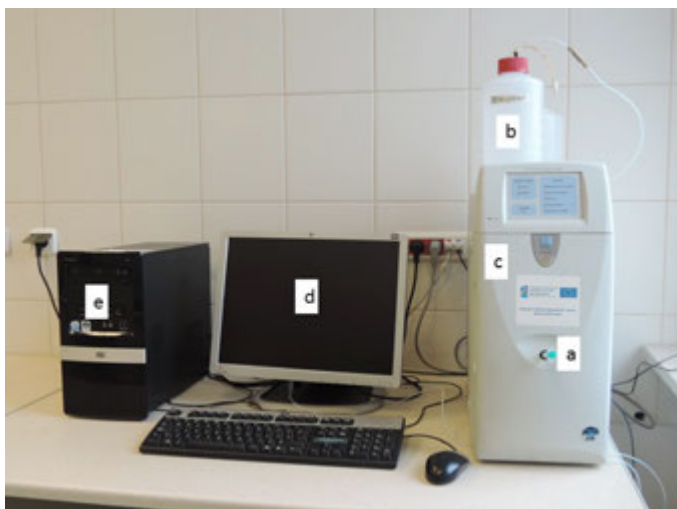
*Roztwór 1% azotanu srebra:* rozpuścić 10 g  $\text{AgNO}_3$  w  $1 \text{ dm}^3$  wody destylowanej i dodać  $1 \text{ cm}^3$  kwasu azotowego ( $d = 1,4 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$ ).

## Metody chromatograficzne

Popularne w ostatnim okresie czasu w zastosowaniu do ilościowych rutynowych oznaczeń prostych anionów (i kationów) nieorganicznych metody te są stosowane w wersji chromatografii jonowej (ang. ion chromatography – IC). Urządzenia te charakteryzują się dużą selektywnością i powtarzalnością wyników, przy użyciu niewielkiej próby i krótkim czasie trwania pomiaru.

### Oznaczanie składu jonowego metodą chromatograficzną

W metodzie tej procesy rozdzielania substancji oparte są na reakcji wymiany jonowej pomiędzy jonitem (wymieniaczem jonowym), zdolnym do wymiany własnych jonów na inne jony zawarte w badanym roztworze. Próbkę analizowanego roztworu wprowadza się (wstrzykuje się) i przez dozownik zostaje ona wprowadzona do strumienia eluentu i trafia do kolumny analitycznej (rozdzielczej), gdzie następuje rozdział chromatograficzny przemieszczających się składników próbki. Proces wymiany jonowej zachodzi w sposób odwracalny i stechiometryczny, a rozdzielane rodzaje jonów różnią się czasem przebywania w komorze rozdzielczej, nawiązującym do powinowactwa jonów zawartych w próbce do wymieniacza jonowego. Z kolumny rozdzielczej eluat przedostaje się do kolumny supresora, w której w wyniku reakcji wymiany następuje obniżenie przewodności elektrycznej eluentu, na tle względnie wysokiej przewodności jonów analizowanej próby. Z supresora składniki próbki trafiają do detektora (najczęściej konduktometrycznego), z którego sygnał elektryczny w postaci (wykresu) piku chromatograficznego jest rejestrowany w formie elektronicznej. Chromatogram przedstawia zależność stężenia jonów w funkcji czasu lub objętości eluentu.



Fot. 5. Chromatograf jonowy: a – dozownik, b – pojemnik z nośnikiem, c – zespół elementów pomiarowych w obudowie, d – ekran, wyświetlacz chromatogramu, e – jednostka komputerowa.

### **Oznaczanie jonów metodami spektrofotometrycznymi (ASA, AES i ICP)**

Spektrometria atomowa (atomowa spektrometria absorpcyjna, atomowa spektrometria emisyjna i plazmowa emisyjna spektrometria atomowa) stosowana w nowoczesnych laboratoriach, jest metodą analityczną polegającą na interpretacji widm atomowych. Wykorzystuje ona ilościowe zależności zmian energii wywołane przejściami elektronowymi w atomach. Charakteryzuje się dużą czułością, selektywnością i szybkością oznaczeń, a jedynym jej ograniczeniem są wysokie koszty aparatury. Jest ona typową metodą porównawczą wymagającą jednego z trzech znanych sposobów kalibrowania: **krzywej wzorcowej, dodawania wzorca, wzorca wewnętrznego.**

Metoda krzywej wzorcowej (krzywej kalibracji) przewiduje sporządzenie serii roztworów wzorcowych w takim samym środowisku i warunkach o stężeniu analitu 0 (ślepa próba), 1, 2, 3 itd. i wykonaniu dla każdego z nich pomiaru instrumentalnego. Z uzyskanych wyników pomiarów wykreśla się krzywą kalibracji (wzorcową), przedstawiającą zależność wartości pomiaru od stężenia we wzorcu. Następnie wykonuje się pomiar instrumentalny próby, który nanosi się na krzywą kalibracji i odczytuje odpowiadające mu stężenie. W przypadku gdy zależność wartości pomiaru od stężenia ma przebieg liniowy można ograniczyć się do dwóch pomiarów wzorcowych, w tym jeden stanowi ślepa próba.

Metoda dodawania wzorca przewiduje wykonanie pomiaru instrumentalnego analizowanej próby. Następnie do tej próby dodajemy znaną ilość oznaczanej substancji (jako wzorca), roztwór starannie mieszamy i wykonujemy powtórny pomiar instrumentalny. Wynik pomiaru jest większy, a wzrost jest proporcjonalny do ilości dodanego wzorca. Metoda ta może być stosowana w wersji z pojedynczym dodatkiem wzorca lub z wielokrotnym dodawaniem wzorca.

Metoda wzorca wewnętrznego jest stosowana w przypadku gdy wartość pomiaru jest nieproporcjonalna do zmian stężenia. Przewiduje ona sporządzenie serii roztworów wzorcowych analitu o wzrastającym stężeniu i wykonaniu pomiaru instrumentalnego, a następnie dodanie do każdego z nich znanych, o jednakowym stężeniu, ilości wzorca wewnętrznego i wykonaniu powtórnego pomiaru instrumentalnego. Obliczony stosunek wartości pomiarów przed i po aplikacji wzorca wewnętrznego roztworów wzorcowych w funkcji stężenia pozwala na wykreślenie krzywej kalibracji. Następnie wykonuje się pomiary instrumentalne próby i próby z uwzględnieniem wzorca wewnętrznego, wartość obliczonego ich stosunku nanosi się na krzywą wzorcową i odczytuje odpowiadające stężenie.

## V. OZNACZANIE SKŁADU CHEMICZNEGO ROŚLIN

### *Wstęp i definicje*

Skład chemiczny poszczególnych gatunków roślin oraz określonych ich części (organów) jest cechą genetyczną. W kulturach rolniczych jest on wskaźnikiem jakości płodów ze względu na ich przeznaczenie do celów żywieniowych (paszowych) i jako surowiec do przetwórstwa. Świeża masa roślinna zawiera określoną ilość wody i to co pozostaje po wysuszeniu do stałej wagi w temperaturze 105°C – tzw. sucha masa (tab. 12).

Tabela 12. Przeciętna zawartość wody i suchej masy w wybranych kulturach roślin (%)

Roślina	Część rośliny	Woda	Sucha masa
		w % świeżej masy	
Burak cukrowy	korzeń	75–80	20–25
	liście	85–90	10–15
Ziemniak	bulwy	75–80	20–25
Zboża	ziarno	12–15	85–88
	słoma	13	87
Trawy	części nadziemne	75–90	10–25
Siano łąkowe		15	85
Ogórki, pomidory	owoce	85–95	5–15

Zasadniczą część suchej masy roślin stanowią substancje organiczne. Po jej spopieleniu pozostaje mineralna reszta – tzw. popiół, który stanowi od kilku do kilkunastu procent suchej masy materiału roślinnego.

W skład związków organicznych masy roślin wchodzi: węglowodany, tłuszcze, białka, enzymy, fosfolipidy, witaminy, alkaloidy i inne (tab. 13).

Tabela 13. Przeciętna zawartość związków organicznych w wybranych kulturach roślin (% ś. m.)

Roślina	Cukry	Skrobia	Celuloza	Tłuszcz	Białko
Pszenica (ziarno)	3	58	2,5	2	15
Soja (ziarno)	8	2	4,5	25	35
Ziemniak (bulwa)	1	18	1,0	ślady	1,2
Burak cukrowy (korzeń)	18	0	1,2	0,1	0,6

### *Metody oznaczeń*

#### **Oznaczanie popiołu surowego**

Metoda oznaczania zawartości popiołu surowego w materiale roślinnym i polega na spopieleniu próbki materiału w temperaturze 550°C i zważeniu uzyskanego popiołu.

## Wykonanie oznaczenia

Należy odważyć, z dokładnością do 1 mg, około 5 g materiału roślinnego (2,5 g w przypadku substancji pęczniejących) i umieścić w tyglu do spalań, wyprażonym i o stałej masie. Tygiel postawić na płycie grzewczej i ogrzewać stopniowo aż do zwęglenia. Następnie wstawić tygiel do pieca ustawionego na  $550^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ . Utrzymywać w tej temperaturze aż do uzyskania popiołu o barwie białej, jasnoszarej lub jasnoczerwonej, świadczącej o braku cząsteczek węglowych. Umieścić tygiel w ekzykatorze, pozostawić do ochłodzenia i zważyć. Zawartość popiołu surowego X obliczyć w procentach według następującego wzoru:

$$X \% = \frac{(a - b) \cdot 100}{m}$$

gdzie:

a – masa tygla z próbą po spaleniu (g),

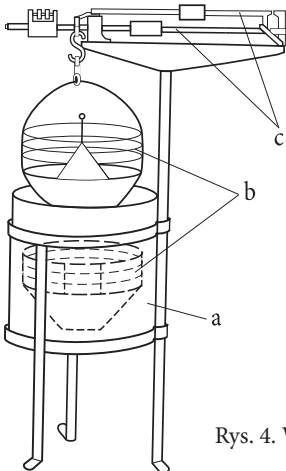
b – masa tygla, tara (g),

m – masa próbki (g).

Substancje, które trudno się spopielają, należy spopielać wstępnie przez 3 godziny. Następnie po ochłodzeniu i dodaniu kilku kropli 20% roztworu azotanu amonu (dodawać ostrożnie, tak aby nie spowodować strat popiołu i tworzenia się zbryleń). Po wysuszeniu kontynuować zwęglanie w piecu. Powtarzać czynność aż do całkowitego spopielenia. W przypadku olejów i tłuszczów odważka powinna wynosić 25 g. Zwęglać w tyglu odpowiedniej wielkości, przenosząc płomień na substancję skrawkiem bezpopiołowej bibuły filtracyjnej. Po spaleniu pozostałość zwilżyć małą ilością wody. Wysuszyć i spopielać, jak opisano wyżej.

**Sprzęt i akcesoria:** Płyta grzejna, elektryczny piec do spalań z termostatem, tygły do spalań platynowe lub ze stopu platyny i złota (10% Pt, 90% Au), prostokątne ( $60 \times 40 \times 25$  mm) lub okrągłe (średnica 60–75 mm) o wysokości 20–25 mm.

### Oznaczanie skrobiowości ziemniaków metodą polową



Metoda polega na oznaczeniu ciężaru właściwego bulw przy użyciu wagi hydrostatycznej Reimana-Parowa (rys. 4). Ciężar właściwy bulw skorelowany jest z ilością skrobi, gdyż zawartość substancji nie skrobiowych w ziemniakach jest względnie stała i wynosi 5,75% (stała Maerckera).

### Wykonanie oznaczenia

Do górnego kosza wagi hydrostatycznej należy odważyć 5,00 kg suchych bulw (lub 5,05 kg mokrych). Następnie całą ilość bulw przemieścić do kosza dolnego zanurzonego w wodzie i przesuwając suwaki (dolny na wartość 0,29 i górny) doprowadzić wagę do równowagi, a z położenia

Rys. 4. Waga Reimana-Parowa. A – zbiornik na wodę, B – ażurowe kosze do ważenia bulw, C – ramię wagi z dwiema podziałkami.

suwaka na górnej belce odczytać: ciężar ziemniaków zanurzonych w wodzie i ich skrobiowość.

Skrobiowość można również obliczyć na podstawie ciężaru właściwego ziemniaków ( $d_z$ ), który pozwala na ustalenie zawartości suchej masy:

$$\text{s.m. (\%)} = 214,287 \cdot d_z - 211,757$$

a następnie po odjęciu stałej Maerckera (5,75) określić procent skrobiowości uwzględniając poprawkę na temperaturę wody.

### ***Oznaczanie zawartości skrobi w ziemniakach metodą polarymetryczną***

Metoda polega na usunięciu z rozdrobnionych ziemniaków substancji rozpuszczalnych w wodzie, rozpuszczeniu skrobi w roztworze chlorku wapniowego i zmierzeniu kąta skręcenia płaszczyzny światła spolaryzowanego. Pomiar kąta skręcenia przeprowadza się w polarymetrze automatycznym lub kołowym z podziałką co najmniej  $0,05^\circ$ , wyposażonym w rurki polarymetryczne o długości 1 bądź 2 dm.

#### a) Wykonanie oznaczenia

W zlewce na  $200 \text{ cm}^3$  odważyć na wadze analitycznej około 15 g (z dokładnością do 0,001g) miazgi ziemniaczanej pobranej ze średniej próby analitycznej. Próbę przenieść ilościowo na sączonek z twardej bibuły umieszczony na lejku Buechnere, zamontowanym na kolbie podłączonej do pompy próżniowej. Miazgę odsączyć, a pozostałość przemyć kilkakrotnie małymi (po około 10 ml) porcjami zimnej wody. Sączonek z przemytą miazgą przenieść do moździerza i dodać 5 g piasku. Mieszaninę rozcierać przez 10 minut, a następnie przy użyciu  $50 \text{ cm}^3$  roztworu chlorku wapniowego przenieść ilościowo do kolby stożkowej ze szlifem, nałożyć chłodnicę zwrotną i ogrzewać do zagotowania, a następnie gotować przez 15 minut. Po tym czasie szybko schłodzić do temperatury pokojowej i przenieść ilościowo przy użyciu chlorku wapniowego do kolby miarowej na  $100 \text{ cm}^3$ , dodać  $3 \text{ cm}^3$  roztworu Carreza I i wymieszać, dodać  $3 \text{ cm}^3$  roztworu Carreza II i dopełnić do  $100 \text{ cm}^3$  roztworem chlorku wapnia. Tak przygotowany roztwór przesączyć przez suchy karbowany sączonek, odrzucając pierwsze krople przesącza. Rurkę polarymetryczną napełnić badanym roztworem (tak aby nie było w niej powietrza), umieścić w polarymetrze i odczytać kąt skręcenia płaszczyzny polaryzacji światła.

#### b) Obliczenia

Zawartość skrobi w ziemniakach (A) oblicza się w procentach wg wzoru:

$$A = \frac{\alpha \cdot 100 - p \cdot 100}{[\alpha]^{20} \cdot d \cdot a}$$

w którym:

- $\alpha$  – odczyt na polarymetrze, kąt skręcenia płaszczyzny światła spolaryzowanego,
- $[\alpha]^{20}$  – skręcalność właściwa skrobi ziemniaczanej w roztworze chlorku wapniowego wynosząca  $203^\circ$  (dla pomiarów wykonanych w polarymetrze kołowym w świetle sodowym przy  $\lambda = 589 \text{ nm}$ ), bądź  $240^\circ$  (dla pomiarów wykonanych w polarymetrze automatycznym przy  $\lambda = 546 \text{ nm}$ ),

- p – objętość użytego piasku (5 g) – 3 cm<sup>3</sup>,  
d – długość rurki polarymetrycznej – 1 lub 2 dm,  
a – naważka miazgi ziemniaczanej.

**Sprzęt:** homogenizator, pompa próżniowa, waga analityczna, polarymetr automatyczny (kołowy) z podziałką co najmniej 0,05°, moździerz porcelanowy.

**Szkło i akcesoria:** lejki, kolby, kolby miarowe, zlewki, sączki, palnik gazowy lub elektryczny ogrzewacz.

**Odczynniki:** *Chlorek wapniowy*, odważyć 913 g chlorku wapniowego sześciowodnego (cz.d.a.), rozpuścić w 760 cm<sup>3</sup> wody destylowanej i doprowadzić do gęstości  $d = 1,3 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$  w temperaturze 20°C. Przy użyciu kwasu octowego lodowatego doprowadzić pH do wartości 2,5.

*Kwas octowy lodowaty.*

*Roztwór Carreza I*, odważyć 106 g potasu heksacyjanożelazianu (II) trójwodnego (cz.d.a.), rozpuścić w wodzie destylowanej lub demineralizowanej i dopełnić w kolbie miarowej do 1000 cm<sup>3</sup>.

*Roztwór Carreza II* odważyć 219 g octanu cynku dwuwodnego (cz.d.a.), rozpuścić w wodzie destylowanej lub demineralizowanej i przenieść bez strat do kolby na 1000 cm<sup>3</sup>, dodać 30 g kwasu octowego lodowatego i uzupełnić do 1000 cm<sup>3</sup>.

*Kwas solny (cz.d.a.) stężony* (o gęstości 1,200 g · cm<sup>-3</sup>).

### **Oznaczanie zawartości cukrów redukujących**

#### **PN-61/A-88023**

Metoda polega na wytworzeniu barwnego związku cukrów redukujących z 2,4-dwunitrofenolem i kolorymetrycznym oznaczeniu ich stężenia, co wymaga wykreślenia krzywej wzorcowej. Zawartość cukrów redukujących w badanym materiale oblicza się na podstawie jednostek krzywej wzorcowej.

#### Wykonanie oznaczenia

Do zlewki o pojemności 50 cm<sup>3</sup> odważyć 10 g badanej próbki zhomogenizowanego materiału (z dokładnością do 0,01 g), przenieść ilościowo przy użyciu 100 cm<sup>3</sup> wody destylowanej do kolby miarowej o pojemności 200 cm<sup>3</sup> i wytrząsać przez 20 minut. Następnie dopełnić wodą destylowaną do objętości 200 cm<sup>3</sup>, przesączyć (odrzucając pierwsze 25 cm<sup>3</sup> przesączu) i pobrać 2 cm<sup>3</sup> przesączu do dalszej analizy. Przesącz umieścić w próbówce, dodać 6 cm<sup>3</sup> roztworu 2,4-dwunitrofenolu i wstawić na 6 minut do wrzącej łaźni wodnej, po czym ostudzić pod bieżącą wodą. Równocześnie przygotować serię roztworów wzorcowych w ten sposób, że do kolb miarowych o pojemności 100 cm<sup>3</sup> zadać pipetą kolejno 1; 2; 3; 4 i 5 cm<sup>3</sup> wzorcowego roztworu glukozy dopełnić do znaku i wymieszać. Pobrać po 2 cm<sup>3</sup> każdego roztworu wzorcowego i dalej postępować tak jak z przesączem. Pomiar ekstynkcji roztworów wzorcowych i analizowanej próby przeprowadzić w kuwetach na spektrofotometrze (fotokolorymetrze) przy długości fali  $\lambda = 600 \text{ nm}$  w odniesieniu do próby zerowej. Na podstawie kolorymetrowania wzorców wykreślić wykres krzywej wzorcowej przedstawiający zależność ekstynkcji od zawartości cukrów. Wynik kolorymetrowania próby nanieść na wykres krzywej wzorcowej i odczytać z wykresu odpowiadającą mu zawartość cukrów w mg · cm<sup>-3</sup> roztworu.



**Sprzęt:** Homogenizator, wytrząsarka, spektrofotometr z płynną zmianą długości fali w widmie widzialnym lub fotokolorymetr z filtrem o maksymalnej przepuszczalności 620 nm, łaźnia wodna lub kuchenka elektryczna.

**Szkło i akcesoria:** kolby miarowe pojemności 50, 100, 200, 1000 i 2000 cm<sup>3</sup>, pipety, lejki, próbówki, kuwety pomiarowe.

**Odczynniki:** wodorotlenek sodu roztwór 5% (m/m), 2,4-dwunitrofenol, fenol krystaliczny, winian sodowo-potasowy 20% (m/m), wzorcowy roztwór glukozy,

#### **Przygotowanie odczynników do analizy:**

*Roztwór 2,4-dwunitrofenol* przygotowujemy następująco, odważone 14,290 g 2,4-dwunitrofenolu zadaje się 440 cm<sup>3</sup> 5% roztworu wodorotlenku sodu i rozpuszcza we wrzącej łaźni wodnej. Następnie dodaje się 5 g fenolu krystalicznego ciągle utrzymując na łaźni wodnej do czasu, aż roztwór będzie klarowny. Do klarownego roztworu dodać 1000 cm<sup>3</sup> 20% winianu sodowo-potasowego, schłodzić i dopełnić wodą destylowaną do objętości 2000 cm<sup>3</sup>,

5% roztworu wodorotlenku sodu (m/m),

Fenol krystaliczny,

*Roztwór 20% winianu sodowo-potasowego:* odważyć 20 g bezwodnego KNaC<sub>4</sub>H<sub>4</sub>O<sub>6</sub> rozpuścić w wodzie i dopełnić do 100 cm<sup>3</sup> w kolbie miarowej,

*Roztwór wzorcowy glukozy:* odważyć 1 g glukozy bezwodnej (cz.d.a.) z dokładnością do 0,01 g, rozpuścić w wodzie destylowanej, przenieść ilościowo do kolby miarowej o pojemności 100 cm<sup>3</sup>, dopełnić wodą destylowaną do znaku i dokładnie wymieszać. Tak przygotowany roztwór w 1 cm<sup>3</sup> zawiera 10 mg glukozy.

#### **Oznaczanie azotu ogólnego metodą Kjeldahla (z miareczkowaniem)**

Metoda polega na całkowitym rozkładzie (mineralizacji) materii organicznej za pomocą stężonego kwasu siarkowego (w warunkach redukcyjnych), przy czym azot zawarty w próbce przechodzi w (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, następnie podlega oddestylowaniu amoniak, który wiąże się w odbieralniku z kwasem siarkowym (lub borowym). Po zakończonej destylacji odmiareczkowuje się nadmiar kwasu wodorotlenkiem sodu, a z ilości zużytego przy miareczkowaniu wodorotlenku oblicza się zawartość azotu w badanym materiale. Stosując przelicznik 6,25 można obliczyć zawartość białka surowego. Metoda Kjeldahla uważana jest za klasyczną, istnieją liczne jej modyfikacje i aparatura o różnym poziomie zautomatyzowania (fot. 6).

Fot. 6. Półautomatyczne urządzenie do oznaczania azotu amonowego (2300 Kjeltex Analyzer Unit): a – kolba destylacyjna, b – panel sterujący, c – zbiornik modułu miareczkującego, d – zbiornik roztworu miareczkującego.





### a) Mineralizacja próby

Mineralizację prób przeprowadza się „na mokro” w stężonym kwasie siarkowym ( $d=1,84 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ ), w kolbach okrągłodennych, pod wyciągiem. Masa próby uzależniona jest od zawartości białka, przy czym za optymalną przyjmuje się próbę zawierającą 10–30 mg azotu (zazwyczaj masa próby wynosi od 0,5 do 2 g materiałów w formie stałej). Przed rozpoczęciem mineralizacji do kolby dodaje się katalizatory np. selenowy lub miedziowy i substancje podnoszące temperaturę wrzenia np.  $\text{K}_2\text{SO}_4$ . Kolbę z próbą zadaną kwasem siarkowym ogrzewa się łagodnie i stopniowo, aby nie dopuścić do intensywnego pienienia wewnątrz kolby i osadzania materiału na wewnętrznej ścianie szyjki kolby. Po osiągnięciu klarowności płynu w kolbie ogrzewanie prowadzi się jeszcze przez około 20–30 minut, co gwarantuje całkowitą mineralizację materiału.

### b) Destylacja amoniaku

Destylację amoniaku prowadzi się w zestawie Parnasa-Wagnera lub kolbie, w której prowadzono mineralizację, a skropliny opuszczające zakończenie chłodnicy wprowadza się do odbieralnika z mianowanym roztworem kwasu siarkowego ( $25 \text{ cm}^3$ ,  $0,1 \text{ mol}(+) \cdot \text{dm}^{-3} \text{ H}_2\text{SO}_4$ ), z dodatkiem wskaźnika Tashiro. Zmineralizowaną próbę lub jej część zadaje się w kolbie destylacyjnej ok.  $40 \text{ cm}^3$  20% roztworu NaOH. Ilość zasady wylicza się równowagowo (z niewielkim naddatkiem) w stosunku do ilości kwasu wprowadzonego ze zmineralizowaną próbą. Uszczelnia się połączenia zestawu i prowadzi destylację w czasie 10–15 minut do całkowitego oddzielenia amoniaku, po czym wykonuje test (papierkiem lakmusowym) na zawartość amoniaku w skroplinach opuszczających chłodnicę. Zmiana barwy czerwonego papierka lakmusowego na niebieską wskazuje na niecałkowite oddestylowanie amoniaku.

### c) Miareczkowanie i obliczenia

Zawartość odbieralnika (nadmiar kwasu siarkowego) miareczkuje się mianowanym roztworem ługu sodowego ( $0,1 \text{ mol}(+) \cdot \text{dm}^{-3} \text{ NaOH}$ ) do zmiany barwy wskaźnika Tashior z fioletowej na zieloną. Z ilości zużytego podczas miareczkowania ługu sodowego oblicza się zawartość azotu amonowego w analizowanym materiale według wzoru:

$$X = \frac{a \cdot 0,0014 \cdot 100}{s}$$

- a – ilość ml  $0,1 \text{ mol}(+) \cdot \text{dm}^{-3} \text{ H}_2\text{SO}_4$  związana przez amoniak wydzielony podczas destylacji. Stanowi ona różnicę między ilością  $0,1 \text{ mol}(+) \cdot \text{dm}^{-3} \text{ H}_2\text{SO}_4$  wprowadzoną do odbieralnika, a ilością ml  $0,1 \text{ mol}(+) \cdot \text{dm}^{-3} \text{ NaOH}$  użytą podczas miareczkowania zawartości odbieralnika,
- 0,0014 g N – liczba gramów azotu odpowiadająca 1 ml  $0,1 \text{ mol}(+) \cdot \text{dm}^{-3} \text{ H}_2\text{SO}_4$ ,
- 100 – przelicznik na procent,
- s – masa materiału, z której pochodzi azot.

**Sprzęt:** zestaw do mineralizacji, zestaw do destylacji lub zestaw Parnasa-Wagnera.

**Szkló i akcesoria:** kolby miarowe, biureta, kolby Erlenmajera.

**Odczynniki:** 20% roztwór wodorotlenku sodu,

$0,05 \text{ mol}(+) \cdot \text{dm}^{-3} \text{H}_2\text{SO}_4$ : odmierzyć  $2,78 \text{ cm}^3$  stężonego  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ( $d = 1,84 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$ ), uzupełnić w kolbie miarowej wodą destylowaną do objętości  $1000 \text{ cm}^3$  i ustalić miano,

$0,1 \text{ mol}(+) \cdot \text{dm}^{-3} \text{NaOH}$ : odważyć 4 g NaOH, uzupełnić w kolbie miarowej wodą destylowaną do objętości  $1000 \text{ cm}^3$  i ustalić miano,

wskaźnik Tashiro: 1 g czerwieni metylenowej i 0,5 g błękitu metylenowego rozpuścić w  $1000 \text{ cm}^3$  etanolu.

### ***Oznaczania białka metodą spektrofotometryczną***

Zasada tego oznaczenia polega na wykorzystaniu zjawiska selektywnego pochłaniania (absorpcji) promieniowania elektromagnetycznego przez badane substancje, gdyż cechą charakterystyczną każdej substancji chemicznej jest zdolność do specyficznej absorpcji ściśle określonych kwantów promieniowania. Metody analityczne wykorzystują promieniowanie w zakresie światła białego (VIS), ultrafioletu (UV) oraz podczerwieni (IR). Te ostatnie są bezinwazyjne i pozwalają również na oznaczanie białka w roztworach (fot. 7). Absorpcji promieniowania podczerwonego towarzyszą zmiany energii oscylacyjnej cząsteczek. Ponieważ energia ta jest skwantowana, absorbowane jest tylko promieniowanie o pewnych określonych energiach, charakterystycznych dla grup funkcyjnych wykonujących drgania. Dzięki temu, wartości częstości drgań charakterystycznych mogą być ujęte w formie odpowiednich tabel. Absorpcyjne widmo IR umożliwia ustalenie jakie grupy funkcyjne występują w analizowanej próbce.



Fot. 7. Wielofunkcyjny analizator zawartości białka: a – kubek na próbę materiału sypkiego, b – komora na próby płynne, c – jednostka komputerowa, d – monitor

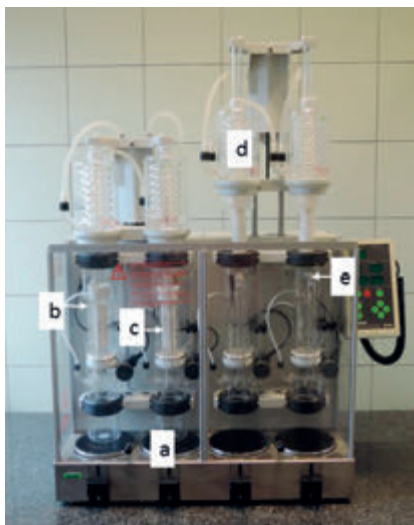
### ***Oznaczanie zawartości tłuszczu surowego metodą ekstrakcyjno-wagową (metoda Soxhleta)***

Metoda polega na ekstrakcji tłuszczów z produktów spożywczych i naturalnych surowców, a następnie wagowym oznaczeniu zawartości wyekstrahowanego tłuszczu całkowitego w stosunku do masy badanej próby.

## a) Przygotowanie próby

Próbkę materiału suchego i rozdrobnionego rozetrzeć w moździerzu na jednolitą masę. Odważyć na wadze analitycznej w krystalizatorze około 40 g (z dokładnością do 0,001 g) badanego materiału a następnie zmieszać z 10 g bezwodnego siarczanu sodu. Mieszaninę przenieść ilościowo do gilzy ekstrakcyjnej (używając waty bawełnianej, którą również umieszczamy w gilzie). Gilza powinna być wypełniona badanym materiałem maksymalnie do 1/3 wysokości.

## b) Ekstrakcja



Fot. 8. Zestaw Soxhleta do oznaczania tłuszczu: a – kolba destylacyjna, b – komora ekstraktora, c – gilza ekstrakcyjna, d – chłodnica zwrotna, e – lewar (przelew).

Umieścić kilka kulek szklanych w suchej i czystej kolbie destylacyjnej, a następnie całość zważyć na wadze analitycznej z dokładnością do  $\pm 1$  mg. Kolbę umieścić w łaźni grzewczej i wlać ostrożnie około 350 cm<sup>3</sup> n-heksanu. Połączyć elementy zestawu: w kolbie ekstrakcyjnej umieścić gilzę zawierającą badaną próbkę, a ekstraktor połączyć z kolbą destylacyjną i chłodnicą (fot. 8).

Ekstrahować tłuszcze przez 2–2,5 godziny, przy częstotliwości przelewów co 5–6 minut. Kolbę destylacyjną ogrzewa się do wrzenia, znajdujący się w niej rozpuszczalnik odparowuje, podąża w górę do chłodnicy, gdzie skrapla się i spływa do komory ekstraktora obmywając badaną substancję. Gdy poziom cieczy w komorze ekstraktora osiągnie wysokość górnego kolanka (lewara), cały ekstrakt jest zawracany z powrotem do kolby destylacyjnej. Po skończonej wielokrotnej ekstrakcji, oddestylowaniu rozpuszczalnik, ostygnięciu elementów zestawu i przedmuchianiu ekstraktu strumieniem azotu (przez około 10 minut), kolbę destylacyjną wraz z zawartością zważyć na wadze analitycznej z dokładnością do 0,001 g.

## c) Obliczenia

Obliczenie zawartości tłuszczu surowego przeprowadza się według poniższego wzoru:

$$X = \frac{a - b}{m} \cdot 100 \quad [\text{g}/100 \text{ g lub } \%]$$

gdzie:

- a – masa kolby z ekstraktem po wysuszeniu (g),
- b – masa kolby ekstrakcyjnej przed oznaczeniem (g),
- m – masa próby (g).

## LITERATURA UZUPEŁNIAJĄCA

1. Bednarek R., Dziadowiec H., Pokojka U., Prusinkiewicz Z. 2000. Badania ekologiczno-gleboznawcze, PWN Warszawa, 344.
2. Gorlach E., Mazur T. 2002. Chemia rolna, PWN Warszawa, 347.
3. Lityński T., Jurkowska H., Gorlach E. 1976. Analiza chemiczno-rolnicza. Przewodnik metodyczny do analizy gleby i nawozów. PWN Warszawa, s. 330.
4. Mercik S. (red.) 2002. Chemia rolna. Podstawy teoretyczne i praktyczne. Wyd. SGGW, Warszawa, s. 287.
5. Ostrowska A., Gawliński S., Szczubiałka Z. 1991. Metody analizy i oceny właściwości gleb i roślin – Katalog, Wyd. IOŚ, Warszawa, 334.
6. Jeske A., Gworek B. 2011. Przegląd metod oznaczania biodostępności i mobilności metali ciężkich w glebach. Ochrona Środowiska i Zasobów Naturalnych, 49, s. 209–218.
7. Polska Norma PN-EN ISO 659:2010 Nasiona oleiste.
8. pp. 11 (<http://www.zcha.pwr.wroc.pl/dydaktyka.php?kurs=chc016l>)
9. Tessier A., Campbell P.G. C., Bisson M. 1979. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. Anal. Chem., 51(7): 844–851.
10. Turski R. (red.) 1998. Gleboznawstwo, ćwiczenia, Wyd. AR, Lublin, 200.
11. Turski R., Słowińska-Jurkiewicz A., Hetman J. 1999. Zarys gleboznawstwa, Wyd. AR Lublin.
12. Ure A.M., Quevauviller Ph., Muntau H., Gripink B. 1993. Speciation of heavy metals in soils and sediments. An account of the improvement and harmonization of extraction techniques undertaken under auspices of the BCR of the Commission of the European Communities. Intern. J. Environ. Anal. Chem., 51, s. 135–151.
13. Woźniak B. 2012. Podstawy chromatografii jonowej, Oznaczenie wybranych anionów nieorganicznych w wodach różnego pochodzenia metodą chromatografii jonowej.





*The scientific environment integration of the Polish Ukrainian borderland area  
Integracja środowisk naukowych obszaru pogranicza polsko-ukraińskiego*

Projekt współfinansowany przez Unię Europejską w ramach Programu Współpracy Polska-Białoruś-Ukraina 2007-2013

Pedagogical State University in Drohobych  
Iwana Franka str. 24  
82100 Drohobych  
phone +380 324 41 04 74  
fax + 380 324 43 38 77

University of Rzeszów  
Aleja Rejtana 16 C  
35-959 Rzeszów  
phone +48 17 85 22 100