

**Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu**  
**Instytut Nauk o Glebie i Ochrony Środowiska**

**CEZARY KABAŁA, ANNA KARCZEWSKA**

**METODYKA**  
**ANALIZ LABORATORYJNYCH**  
**GLEB I ROŚLIN**

Wydanie 8a.  
Wrocław, październik 2019

Dostęp internetowy: <http://www.up.wroc.pl/~kabala>

## UWAGI OGÓLNE

1. Przygotowanie próbek
  - do większości analiz roztarte tak, by przechodziły przez sito o średnicach oczek 2 mm,
  - do oznaczenia węgla organicznego, azotu, metali ciężkich oraz tlenków żelaza próbki (niewielka objętość, np. łyżeczka do herbaty) powinny być dodatkowo roztarte w móżdżerzu agatowym tak, by cała masa próbki przechodziła przez sito o średnicy oczek 0,1 mm,
2. Liczba powtórzeń
  - Standardowo każdą z analiz laboratoryjnych wykonuje się w przynajmniej dwóch powtórzeniach, a ich wyniki uśrednia, jeśli różnica nie przekracza 5%. W przypadku większej rozbieżności wyników analizę należy powtórzyć.
  - Oznaczenie składu granulometrycznego oraz pH z reguły wykonuje się bez powtórzeń.
3. Przygotowanie odczynników
  - Objętość roztworów ekstrakcyjnych powinna być tak obliczona, by uwzględniała:
    - (a) liczbę próbek gleby do analizy,
    - (b) liczbę powtórzeń,
    - (c) próbę (próby) kontrolną lub tzw. „zerówkę”.Minimalna potrzebna objętość na ogół jest zaokrąglana do pełnych litrów.
  - Objętość roztworów do miareczkowania szacowana jest z dużym przybliżeniem, w zależności od charakteru próbek i spodziewanych wyników.
4. Trwałość podstawowych odczynników

nietrwałe; zlikwidować resztki po zakończeniu własnej analizy	trwałe; odczynnik pozostały po analizie można przechowywać do wykorzystania przez następne osoby
1 M octan amonu 1 M octan sodu (lub wapnia) 1 M chlorek amonu 0,01 M NaOH 0,01 M CaCl <sub>2</sub> 0,1 M sól Mohra 3% kwas borowy 1 M KCl	calgon 3% NaF NaOH: 0,1 M; 33% HCl: 0,1 M; 1 M; 10% kwas salicylowo-siarkowy mieszanina chromowa (dwuchromian) indykatory: fenolftaleina, orto-fenantrolina, Tashiro, czerwień metylowa (w szczelnych kolbach)

## SPIS TREŚCI

1. Oznaczenie absolutnie suchej masy gleby i zawartości wody higroskopowej metodą suszarkowo-wagową	4
2. Oznaczenie popielności / straty żarowej gleb i materiałów organicznych (roślin, torfów, ściółek leśnych itp.)	5
3. Oznaczenie składu granulometrycznego	7
4. Oznaczenie pH metodą potencjometryczną	12
5. Oznaczenie zawartości węgla wapnia metodą Scheiblera	14
6. Oznaczenie kwasowości wymiennej i glinu wymiennego	16
7. Oznaczenie kwasowości hydrolitycznej	19
8. Oznaczenie wymiennych kationów zasadowych	21
9. Oznaczenie węgla organicznego metodą Tiurina	24
10. Oznaczenie całkowitej zawartości azotu zmodyfikowaną metodą Kjeldahla	26
11. Oznaczenie przyswajalnych form fosforu, potasu i magnezu w glebie metodami Egnera-Riehma i Schachtschabela	28
12. Oznaczenie przyswajalnych form makro- i mikrośladników w glebie metodą Mehlich-3	31
13. Mineralizacja gleb kwasem nadchlorowym (w celu oznaczenia zbliżonej do całkowitej zawartości pierwiastków śladowych)	31
14. Mineralizacja gleb „wodą królewską”	32
15. Mineralizacja materiału roślinnego na sucho	34
16. Oznaczenie rozpuszczalnych/przyswajalnych form metali ciężkich w glebie	35
17. Oznaczenie żelaza „wolnego” metodą CBD (wg Mehry i Jacksona)	48
18. Oznaczenie żelaza „wolnego” metodą CBD (wg Holmgrena)	49
19. Oznaczenie żelaza „aktywnego” (amorficznego/niekryształicznego) metodą szczawianową wg Tamma/Schwertmanna	50
20. Oznaczenie żelaza skompleksowanego przez substancję organiczną metodą pirofosforanową	51

# 1. ABSOLUTNIE SUCHA MASA GLEBY I ZAWARTOŚĆ WODY HIGROSKOPOWEJ METODA SUSZARKOWO-WAGOWĄ

Istotą metody jest ustalenie ubytku masy próbki gleby będącego efektem odparowania wody higroskopowej podczas suszenia w 105<sup>0</sup>C.

## Wykonanie oznaczenia

Analizę wykonuje się w co najmniej dwóch powtórzeniach dla każdej próbki.

1. Wysuszyć tygielkę porcelanową lub szklane naczynko wagowe w suszarce w 105<sup>0</sup>C w ciągu około 2 godzin, następnie przenieść do eksykatora zawierającego CaCl<sub>2</sub> i wystudzić do temperatury pokojowej (około 30 minut).
2. Zważyć naczynko z dokładnością przynajmniej do tysięcznej grama – waga M<sub>0</sub>.
3. Do naczynka wsypać ok. 5 g gleby powietrznie suchej i zważyć naczynko z glebą – waga M<sub>p</sub>.
4. Wstawić naczynko do suszarki i suszyć w temperaturze 105<sup>0</sup>C około 5 godzin, następnie przenieść do eksykatora i wystudzić.
5. Ponownie zważyć naczynko z glebą – waga M<sub>k</sub>.
6. Dla upewnienia się, że próbka jest dobrze wysuszona, należy ją powtórnie wstawić do suszarki i suszyć przez 1,5 godziny, po czym wystudzić w eksykatorze i zważyć.
7. Jeśli waga nie zmieniła się, analizę uznajemy za zakończoną.
8. Jeśli waga próbki obniżyła się, suszenie, studzenie i ważenie próbki należy dotąd powtarzać aż próbka osiągnie stałą masę (ostateczną wagę M<sub>k</sub>).

## Obliczenie wyników

Zawartość wody higroskopowej W<sub>h</sub> w glebie oblicza się następująco:

$$W_h = \frac{(M_p - M_0) - (M_k - M_0)}{M_p - M_0} * 100 \quad [\%]$$

Absolutnie sucha masa gleby będzie więc równa:

$$M_a = 100 - W_h \quad [\%]$$

**Sprzęt:** waga analityczna, suszarka laboratoryjna, eksykator, szczypce

**Szkło:** tygielki porcelanowe (średnicy 2-5 cm) lub szklane naczynka wagowe.

## 2. POPIELNOŚĆ / STRATA ŻAROWA GLEB I MATERIAŁÓW ORGANICZNYCH (ROŚLIN, TORFÓW, ŚCIÓLEK, KOMPOSTÓW ITP.)

### Wykonanie oznaczenia

Oznaczenie straty żarowej (popielności) **musi** być poprzedzone oznaczeniem absolutnie suchej masy próbki, gdyż do niej odnosi się stratę żarową (popielność).

Jeśli nie analizowano zawartości wody higroskopowej, to pierwszą czynnością związaną z oznaczeniem straty żarowej (popielności) jest oznaczenie absolutnie suchej masy.

Materiały organiczne i organiczno-mineralne często ulegają rozwarstwieniu w trakcie przesiewania i przechowywania, dlatego przed analizą próbkę należy dokładnie wymieszać.

### Etap 1: Oznaczenie absolutnie suchej masy próbki.

1. Wyprażyć tygielkę porcelanowy piecu muflowym (lub podobnym) w 500<sup>0</sup>C w ciągu około 2 godzin, następnie przenieść do eksykatora zawierającego CaCl<sub>2</sub> i wystudzić do temperatury pokojowej (około 30 minut).
2. Zważyć tygielkę z dokładnością przynajmniej do tysięcznej grama – waga M<sub>t</sub>.
3. Do tygielki wsypać 2-5 g suchej gleby lub materiału roślinnego i zważyć tygielkę z próbką – waga M<sub>p</sub> (może posłużyć do obliczenia zawartości wody higroskopowej)
4. Wstawić tygielkę do suszarki i suszyć w temperaturze 105<sup>0</sup>C około 5 godzin, następnie przenieść do eksykatora i wystudzić.
5. Ponownie zważyć naczynko z próbką – waga M<sub>k</sub>.
6. Dla upewnienia się, że próbka jest dobrze wysuszona, należy ją powtórnie wstawić do suszarki i suszyć przez 1,5 godziny, po czym wystudzić w eksykatorze i zważyć.
7. Jeśli waga nie zmieniła się, analizę uznajemy za zakończoną.
8. Jeśli waga próbki obniżyła się, suszenie, studzenie i ważenie próbki należy dotąd powtarzać aż próbka osiągnie stałą masę (ostateczną wagę M<sub>k</sub>).

### Etap 2: Oznaczenie straty żarowej (popielności)

9. Tygielkę z próbką umieścić w piecu muflowym i prażyć w temperaturze 500<sup>0</sup>C przez co najmniej 5 godzin.
10. Za pomocą szczypic laboratoryjnych przenieść tygielki do eksykatora i wystudzić (około 30 minut).
11. Zważyć tygielkę z próbką wyprażoną – waga M<sub>s</sub>.
12. Dla upewnienia się, że próbka jest dobrze wyprażona, należy ją powtórnie wstawić do pieca i prażyć przez 1 godzinę, po czym wystudzić w eksykatorze i zważyć.
13. Jeśli waga nie zmieniła się, analizę uznajemy za zakończoną.
14. Jeśli waga próbki obniżyła się, prażenie, studzenie i ważenie próbki należy dotąd powtarzać, aż próbka osiągnie stałą masę (ostateczną wagę M<sub>s</sub>).

### Obliczenie wyników

Stratę żarową L<sub>i</sub> (od angielskiego: *loss on ignition*) oblicza się następująco:

$$L_i = \frac{(M_k - M_t) - (M_s - M_t)}{M_k - M_t} * 100 \quad [\%]$$

Popielność próbki będzie wówczas równa:

$$P = 100 - L_i \quad [\%]$$

**Sprzęt:** waga analityczna, suszarka laboratoryjna, piec muflowy lub podobny, ekzykator, szczytce

**Szkło:** tygielki porcelanowe (średnicy 2-5 cm).

### 3. SKŁAD GRANULOMETRYCZNY GLEB METODA SITOWA I AREOMETRYCZNA

#### 3.1. OZNACZENIE ZAWARTOŚCI FRAKCJI SZKIELETOWYCH METODĄ SITOWĄ

##### Wykonanie oznaczenia

1. Odważyć co najmniej 100 g powietrznie suchej gleby do dużego moździerza porcelanowego. W przypadku gleb silnie szkieletowych wielkość naważki powinna być odpowiednio zwiększona do 0,5 kg – 1 kg – 2 kg lub nawet większej. Najlepszą praktyką jest oznaczenie szkieletowości z użyciem całej pobranej (i przeznaczonej do analiz) próbki gleby.
2. Za pomocą tłuczka drewnianego lub porcelanowego należy rozbić agregaty. Należy zachować szczególną ostrożność w przypadku gleb wietrzeniowych (górkich), by nie rozdrabniać odłamków szkieletu.
3. Do wstępnego rozdrabniania gruboagregatowej próbki gleby można użyć kruszarki szczękowej ze szczeliną wylotową 3-5 mm, wcześniej ręcznie wybierając z próbki grubsze odłamki szkieletowe. **Nie wolno używać młyna agatowego!**
4. Porcjami 100-200 g przesiewać roztartą glebę przez sito 2 mm, lub – jeśli jest taka potrzeba - zestaw sit od najgrubszego do najdrobniejszego (np. 20 – 10 – 5 – 2 mm).
5. Zważyć i osobno zanotować masę frakcji  $>2$  i  $< 2$  mm (lub każdej wydzielonej frakcji), następnie wyliczyć procentowy udział frakcji szkieletowych w całej masie próbki.

**Upewnić się, że pozostałość na sicie to odłamki szkieletu, a nie agregaty glebowe!**

**Nie wolno czegokolwiek rozcierać bezpośrednio na sicie, gdyż grozi to jego zniszczeniem a także zanieczyszczeniem próbki!**

**Sprzęt:** waga laboratoryjna; duży moździerz porcelanowy; tłuczek drewniany lub porcelanowy; sito laboratoryjne o oczkach 2 mm (ewentualnie również 5, 10 i 20 mm) łącznie z dopasowanym dnem; pędzel z twardym włosiem do przeczyszczania sit

#### 3.2. USTALENIE WIELKOŚCI NAWAŻKI I NIEZBĘDNEGO PRZYGOTOWANIA WSTĘPNEGO

1. Zawiesiny różnych gleb w cylindrze pomiarowym powinny mieć zbliżoną gęstość podczas analizy, dlatego zaleca się zróżnicowanie standardowej naważki (40 g) w zależności od przybliżonego uziarnienia gleby:
  - piaski luźne i słabogliniaste – 80 g,
  - piaski gliniaste, gliny piaszczyste i lekkie oraz pyły zwykłe i gliniaste – 40 g,
  - pozostałe gliny oraz pyły ilaste – 20 g,
  - ily – 10 g.
2. W przypadku zmiany wielkości naważki, wyniki analizy należy proporcjonalnie zmniejszyć (przy naważkach większych niż 40 g) lub zwiększyć (przy naważkach mniejszych niż 40 g).
3. Substancja organiczna, węglany oraz rozpuszczalne sole jeśli są obecne w próbce w większych ilościach, mogą wpłynąć na uzyskane wyniki, toteż przed przystąpieniem do

analizy należy je z próbki glebowej usunąć. Ważna jest właściwa kolejność usuwania substancji, jeśli będą usuwane zarówno węglany, jak i substancja organiczna.

4. Wstępnie ustalona naważka próbki powinna być powiększona o procentową zawartość węglanów i/lub substancji organicznej, jeśli będą usuwane przed analizą areometryczną.

### **3.3. USUWANIE SUBSTANCJI ORGANICZNEJ I SOLI ROZPUSZCZALNYCH (niezbędne przy zawartości substancji organicznej >5%)**

1. Do szklanego naczynia o pojemności około 1 l (wysokiej zlewki lub słoja typu twist) odważyć próbkę suchej gleby powiększoną o procentową zawartość substancji organicznej.
2. Dodać 30 cm<sup>3</sup> wody destylowanej i wymieszać.
3. Dodać 30 cm<sup>3</sup> 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, wstrząsnąć lub wymieszać długą szklaną szpatułą i odstawić naczynie na noc. W przypadku silnego pienienia można dodać kilka kropel etanolu lub alkoholu izopropylowego.
4. Na drugi dzień podgrzać zawiesinę na płycie grzejnej lub łaźni wodnej do 80<sup>0</sup>C, dodać 10 cm<sup>3</sup> perhydrolu, a jeśli jest to konieczne - w odstępach półgodzinnych dodawać kolejne 2-3 porcje perhydrolu.
5. Dodawanie perhydrolu i ogrzewanie próbki kontynuuje się aż do wyraźnego osłabienia reakcji burzenia oraz wyraźnego odbarwienia próbki.
6. Po dodaniu ostatniej porcji perhydrolu uzupełnić objętość zawiesiny do ok. 300 cm<sup>3</sup>, zawiesinę podgrzać do wrzenia i utrzymać w stanie bardzo słabego wrzenia przez około 1 godzinę (w celu rozłożenia perhydrolu).
7. Schłodzić naczynie z zawiesiną.
8. Próbkę odwirować i odlać roztwór z nad osadu. Alternatywnie, zawiesinę można pozostawić do następnego dnia do samoistnej sedymentacji. Flokulację można wspomóc poprzez dodanie 25 cm<sup>3</sup> 1M CaCl<sub>2</sub>.
9. Jeśli w próbce spodziewamy się obecności soli rozpuszczalnych (lub stwierdzono ich obecność), próbkę gleby po usunięciu materii organicznej zalewa się ok. 250 cm<sup>3</sup> wody destylowanej i po zamieszaniu mierzy przewodność elektryczną zawiesiny.
10. Jeśli EC > 0,4 mS/cm, zawiesinę należy odstawić na godzinę, od czasu do czasu mieszając ją (alternatywnie zawiesinę można wytrząsać przez godzinę). Następnie zawiesinę poddaje się odwirowaniu, a roztwór z nad osadu zlewa się.
11. Procedurę przepłukiwania z soli (punkty 9-10) powtarza się, dopóki wartość EC utrzymuje się > 0,4 mS/cm.
12. Należy zwracać uwagę, by dekantowany roztwór z nad osadu zawsze był klarowny (nie zawierał zawieszonych frakcji ilastej). Dekantowany roztwór może być zabarwiony (np. związkami humusowymi).

### **3.4. USUWANIE WĘGLANÓW (opcjonalnie, nie zaleca się w przypadku gleb wytworzonych ze skał wapiennych)**

1. Próbkę po usuwaniu próchnicy/soli lub odważoną próbkę suchej gleby powiększoną o procentową zawartość węglanów umieszcza się w szklanym naczyniu o pojemności około 1 l (wysoka zlewka lub słoje typu twist).
2. Dodać 25 cm<sup>3</sup> 1M HCl plus po 5 cm<sup>3</sup> 1M HCl na każdy 1% procent węglanów w próbce. Naczynie należy przykryć na wypadek silnego burzenia. Po zakończeniu reakcji dodać ok. 250 cm<sup>3</sup> wody destylowanej.



3. Zawiesinę podgrzewać na płycie grzejnej lub łaźni wodnej przez 15 minut w temp. 80°C, mieszając od czasu do czasu. Odstawić na noc do schłodzenia i sedimentacji.
4. Jeśli na drugi dzień roztwór nad osadem jest klarowny można go zlać, jeśli nie jest klarowny – zawiesinę należy odwirować (15 min.) aż do uzyskania klarownego supernatantu.
5. Następnie z osadu należy wypłukać nadmiar chlorków pozostałych po HCl. Procedura jest identyczna jak w przypadku wypłukiwania soli (punkty 9-12). Prowadzi się ją aż do osiągnięcia EC zawiesiny <0,4 mS/cm.

**Sprzęt:** waga, płyta elektryczna (lub łaźnia wodna), konduktometr (pomiar przewodności elektrycznej)

**Szkło:** zlewka lub słój (ok. 1000 cm<sup>3</sup>), cylinderek miarowy 25 cm<sup>3</sup>.

#### Odczynniki

- do usuwania substancji organicznej: 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (perhydrol),
- do usuwania węglanów: 1 M HCl.

### 3.5. OZNACZENIE ZAWARTOŚCI FRAKCJI ZIEMISTYCH METODĄ AREOMETRYCZNO – SITOWĄ (bazującą na modyfikacji i tabelach Prószyńskiego)

Jest to metoda kombinowana, w której udział frakcji drobniejszych oznacza się metodą areometryczną, opierającą się na pomiarze gęstości zawiesiny glebowej w cylindrze pomiarowym. Procentowy udział poszczególnych frakcji grubszych (piaszczystych) wyznacza się metodą sitową, po uprzednim odmyciu frakcji drobniejszych (<0,1 mm).

#### Etap 1: dyspersja próbki glebowej

1. Odważyć 40 g suchej gleby (albo 10g, 20g, 80g w zależności od uziarnienia gleby) do wysokiej zlewki (słoja, garnka itp.) o pojemności ok. 1 l, lub przenieść zwilżoną próbkę po usunięciu węglanów, soli lub substancji organicznej.
2. Dodać ok. 0,5 l wody destylowanej oraz 25 cm<sup>3</sup> calgonu.
3. Mieszać zawiesinę mieszadłem elektrycznym przez 10-30 minut (piaski – 10 min, gliny i pyły – 20 min, gliny ilaste i iły – 30 min).
4. Zdyspergowaną glebę przenieść ilościowo do cylindra miarowego o pojemności 1000 cm<sup>3</sup> i dopełnić wodą destylowaną do kreski.
5. Równocześnie przygotować roztwór porównawczy: do cylindra odmierzyć 25 cm<sup>3</sup> calgonu i dopełnić wodą destylowaną do kreski.
6. **Wyrównać temperaturę we wszystkich cylindrach (dopuszczalna różnica 0,5°C).**

#### Etap 2: ustalenie czasów odczytów (odczyty próbne).

7. Ostrożnie wprowadzić areometr do cylindra z roztworem kontrolnym i zanotować **odczyt kontrolny**.
8. Mieszanie glebową w kolejnych cylindrach mieszać przez 30 sekund mieszadłem ręcznym, a w momencie wyjęcia mieszadła uruchomić stoper lub sekundnik.
9. Po około 10 minutach wprowadzić ostrożnie areometr do zawiesiny na taką głębokość, aby balansowanie areometru było jak najslabsze. Areometr nie powinien być zanurzony w cylindrze dłużej niż 2 minuty (aby zapobiec osiadaniu cząstek na bańce areometru), dlatego najlepiej wprowadzać go na około 30 sekund przed ustalonym czasem odczytu.

10. Po upływie 11 minut (od momentu zakończenia mieszania zawiesiny) zanotować **odczyt próbny** w zawieszynie glebowej.
11. Od uzyskanego wyniku odjąć **odczyt kontrolny** (p. 7). Otrzymana różnica jest przybliżoną zawartością frakcji <0,02 mm. Na tej podstawie i z uwzględnieniem rozpoznania organoleptycznego należy wybrać dla danej gleby właściwą tabelę czasów odczytów.

### **Etap 3. Oznaczenie procentowego udziału frakcji <0,1 mm.**

12. Ponownie wymieszać zawiesinę w cylindrze pomiarowym (jak w p. 8). Uruchomić stoper, wprowadzić areometr do cylindra, i natychmiast przygotować się do pierwszego odczytu, który wykonuje się już po 22-30 sekundach od rozpoczęcia sedymentacji. Jeśli w zawieszynie pojawi się piana, należy dodać kilka kropel alkoholu amyłowego (izopropylowego). Każda sekunda opóźnienia w uruchomieniu stopera pogarsza wynik analizy. Dlatego najlepiej, jeśli analiza wykonywana jest przez dwie osoby lub stoper jest uruchamiany jeszcze przed rozpoczęciem mieszania (np. równo 1 minutę przed rozpoczęciem pomiaru) dla zmniejszenia liczby czynności w momencie zakończenia mieszania.
13. Zanotować odczyty dla średnic <0,1 mm, <0,05 mm, <0,02 mm (oraz ewentualnie <0,006 mm). Odczyt frakcji ilastej (<0,002 mm) wykonywany jest po 18-20 godzinach, na ogół następnego dnia. Należy więc tak zaplanować rozpoczęcie analizy, aby pomiar frakcji koloidalnej nie wypadł np. o godzinie 5 rano.
14. Przy każdej serii odczytów sprawdzić i zanotować odczyt w roztworze kontrolnym.
15. Dopuszcza się rezygnację z pierwszego czasu odczytu (po 22-30 sekundach od zakończenia mieszania), gdyż pomiar ten jest obarczony największym błędem. Wówczas udział frakcji 0,05-0,1 mm jest resztą (różnicą) między 100% a sumą frakcji piaskowych oznaczoną na sitach i sumą frakcji <0,05 mm oznaczoną areometrycznie. Jednak nie zaleca się rezygnacji z pomiaru po 22-30 sek., gdyż wynik ten umożliwi kontrolę jakości oznaczenia i pozwala łatwo wychwycić ewentualne błędy.

### **Etap 4. Oznaczenie procentowego udziału frakcji piasków 0,1-2,0 mm.**

16. Po zakończeniu pomiarów zawiesinę z cylindra przenieść na sito o średnicy oczek 0,1 mm, ostrożnie przemyć pod bieżącą wodą, a pozostały na sicie piasek przenieść (z użyciem tryskawki) do małej parownicy i dokładnie wysuszyć w 105<sup>0</sup>C.
17. Wysuszony piasek rozfrakcjonować na piasek bardzo gruby, gruby, średni i drobny przesiewając przez sita o średnicach oczek 1,0, 0,5 oraz 0,25 mm. Zważyć wszystkie cztery uzyskane frakcje (2,0-1,0; 1,0-0,5; 0,5-0,25; 0,25-0,1 mm).
18. Jeśli piaski wykazują objawy zagregowania po wysuszeniu, przez frakcjonowaniem należy je przenieść do moździerza porcelanowego i delikatnie ręcznie przetrzeć drewnianym tłuczkiem.

### **Obliczenie wyników**

- otrzymaną wagę poszczególnych frakcji piaskowych pomnożyć przez 2,5 (dla przeliczenia udziału procentowego z 40 g na 100 g; w przypadku użycia naważki 20 g – mnożnik wynosi 5, a w przypadku naważki 10g – mnożnik 10),
- odczyty z areometru dla poszczególnych frakcji zmniejszyć o odczyty w roztworze kontrolnym,
- obliczenie udziału poszczególnych frakcji <0,1 mm dokonywać „od końca” (od iłu) przez odjęcie od frakcji grubszej sumy wszystkich frakcji drobniejszych,
- skontrolować ogólną sumę wszystkich frakcji <2 mm. Jeśli jest różna od 100% należy ją odpowiednio skorygować (przy błędzie nie większym niż 3-5%), najczęściej we frakcji 0,05-0,1 mm, albo powtórzyć analizę.

**Sprzęt:** waga, mieszadło elektryczne, mieszadło ręczne, stoper, termometr, areometr Prószyńskiego, sita o średnicach oczek: 0,1, 0,25, 0,5 oraz 1,0 mm,

**Szko:** zlewka lub słoć (ok. 1000 cm<sup>3</sup>), cylindry szklane (1000 cm<sup>3</sup>), pipeta lub cylinder miarowy (25 cm<sup>3</sup>), parowniczkę porcelanowe (średnicy 60-100 cm), tryskawka.

### **Odczynniki**

- calgon – 35,7 g heksametametfosforanu sodu oraz 7,94 węglanu sodu (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) rozpuścić w wodzie destylowanej i dopełnić do 1000 cm<sup>3</sup>,
- alkohol amyłowy w zakraplaczu,
- woda destylowana.

## 4. OZNACZANIE pH METODA POTENCJOMETRYCZNA

Oznaczenie odczynu gleby polega na pomiarze pH zawiesiny gleby w wodzie destylowanej (pH w H<sub>2</sub>O, co odpowiada czynnej kwasowości gleby) oraz w roztworze obojętnej soli (pH w 1 M KCl lub 0,01 M CaCl<sub>2</sub>, co odpowiada kwasowości wymiennej).

Zawiesinę dla próbek gleb mineralnych sporządza się w stosunku (objętościowym) gleby do roztworu 1:2,5 lub 1:5 (norma PN-ISO). W niektórych przypadkach oznacza się pH w stanie pasty nasyconej (gleby zasolone) lub przy stosunku 1:1 (na potrzeby Soil Taxonomy).

Pomiaru pH zawiesiny dokonuje się metodą potencjometryczną, po ustaleniu równowagi gleba-roztwór.

### Wykonanie oznaczenia

#### Wariant 4.1 – z odstawieniem zawiesin na noc (analiza zajmuje 2 dni)

1. Do szklanej zlewki lub pojemnika plastikowego o pojemności 50 cm<sup>3</sup> odmierzyć przy pomocy łyżeczki miarowej 10 cm<sup>3</sup> gleby (planowany stosunek 1:2,5) lub 5 cm<sup>3</sup> gleby (planowany stosunek gleba:roztwór 1:5).
2. Próbkę gleby zalać 25 cm<sup>3</sup> wody destylowanej albo 1 M KCl albo 0,01 M CaCl<sub>2</sub>.
3. Zawiesinę dokładnie wymieszać przy pomocy bagietki szklanej lub plastikowej i pozostawić do następnego dnia.
4. Nazajutrz ponownie zawiesinę wymieszać przy pomocy bagietki oraz bezpośrednio przed wykonywaniem pomiaru. i zmierzyć pH przy użyciu pehametru.
5. Zmierzyć pH zawiesin umieszczając elektrodę w roztworze ponad osadem, utrzymując elektrodę zanurzoną aż do ustabilizowania odczytu pehametru.
6. Przed przystąpieniem do każdej serii pomiarów, pehametr należy wykalibrować wobec roztworów buforowych (*opis poniżej*). Poprawność kalibracji należy kontrolować nie rzadziej niż co 20 odczytów (poprzez sprawdzenie odczytu w roztworach wzorcowych o pH 7 i 4 lub 7 i 9, w zależności od pH mierzonych zawiesin). Należy unikać przeciążania elektrody, co oznacza, że jednorazowo należy analizować nie więcej niż 100 zawiesin.

#### Wariant 4.2 – z wytrząsaniem zawiesin (analizę w całości wykonuje się w 1 dzień)

1. Do pojemnika plastikowego o pojemności 50 cm<sup>3</sup> (zakręcana butelka z szeroką szyjką lub inne podobne naczynko) odmierzyć przy pomocy łyżeczki miarowej 10 cm<sup>3</sup> gleby (planowany stosunek 1:2,5) lub 5 cm<sup>3</sup> gleby (planowany stosunek gleba:roztwór 1:5).
2. Próbkę gleby zalać 25 cm<sup>3</sup> wody destylowanej albo 1 M KCl albo 0,01 M CaCl<sub>2</sub>.
3. Butelki z zawiesiną zakręcić i wytrząsać 2 godziny na wytrząsarce obrotowej.
4. Przy odkręcaniu, butelkę lekko wstrząsnąć, aby zmyć zawiesinę zgromadzoną przy szyjce buteleczki. Butelki pozostawić na kilka minut do odstania zawiesin.
5. Zmierzyć pH zawiesin umieszczając elektrodę w roztworze ponad osadem, utrzymując elektrodę zanurzoną aż do ustabilizowania odczytu pehametru.
6. Przed przystąpieniem do każdej serii pomiarów, pehametr należy wykalibrować wobec roztworów buforowych (*opis poniżej*). Poprawność kalibracji należy kontrolować nie rzadziej niż co 20 odczytów (poprzez sprawdzenie odczytu w roztworach wzorcowych o pH 7 i 4 lub 7 i 9, w zależności od pH mierzonych zawiesin). Należy unikać przeciążania elektrody, co oznacza, że jednorazowo należy analizować nie więcej niż 100 zawiesin.

## Kalibrowanie pehametru

Kalibrację pehametru wykonuje się według instrukcji obsługi aparatu (pehametru), w oparciu o znane wartości pH roztworów buforowych.

Do kalibracji stosuje się zwykle dwa roztwory buforowe o wartościach pH zbliżonych do górnej i dolnej wartości spodziewanego zakresu pomiarowego (zazwyczaj są to: pH 7,0 i pH 4,0, niekiedy 7,0 i 9,0, lub zbliżone). Roztwory buforowe należy przechowywać w lodówce, ale przed kalibracją konieczne należy je doprowadzić do temperatury otoczenia.

**Przed zanurzeniem elektrody w naczyniu z roztworem wzorcowym konieczne należy ją przepłukać w strumieniu wody destylowanej (z tryskawki) oraz delikatnie osuszyć bibułą.**

**Sprzęt:** pehametr z elektrodą szklaną lub kompozytową, waga laboratoryjna, dozownik wody/roztworu.

**Szkło i akcesoria:** zlewki lub butelki plastikowe (zamykane) 50 cm<sup>3</sup>, łyżeczka miarowa o objętości 5 lub 10 cm<sup>3</sup>, bagietki plastikowe (lub szklane) do mieszania, cylinderki miarowe 25 cm<sup>3</sup> (lub dozownik z ustawioną objętością dozowania cieczy 25 cm<sup>3</sup>), tryskawka z H<sub>2</sub>O destylowaną i duża zlewka (min. 500 cm<sup>3</sup>) do spłukiwania elektrody, miękka bibuła do osuszania elektrody.

## Odczynniki

- Woda destylowana
- 1 M chlorek potasu: naważyć 74,4 g KCl, rozpuścić w H<sub>2</sub>O i dopełnić (w kolbie miarowej) do 1000 cm<sup>3</sup>. Otrzymany roztwór powinien wykazywać pH 5,6 – 6,4.
- 0,01 M chlorek wapnia: 1,11 g bezwodnego CaCl<sub>2</sub> (lub: 1,47g CaCl<sub>2</sub>·2 H<sub>2</sub>O) rozpuścić w H<sub>2</sub>O i dopełnić (w kolbie miarowej) do 1000 cm<sup>3</sup>
- Roztwory buforowe: zwykle o pH 7,0 i 4,0. Roztwory buforowe należy przechowywać w lodówce.

## 5. ZAWARTOŚĆ WĘGLANÓW (RÓWNOWAŻNIK $\text{CaCO}_3$ ) METODA SCHEIBLERA

### Wykonanie oznaczenia

1. Odważyć od 1,00 do 20,00 g gleby (w zależności od przewidywanej<sup>1</sup> zawartości  $\text{CaCO}_3$ ) do suchej kolby stożkowej o pojemności 250 cm<sup>3</sup> (naważka *s*).
2. Do naczynka przeznaczonego na kwas w aparacie Scheiblera wlać cylinderkiem miarowym lub pipetą 10 cm<sup>3</sup> 10% roztworu HCl.
3. Wsunąć bardzo ostrożnie naczynko z kwasem do kolby z próbką w taki sposób, aby kwas przedwcześnie nie wylał się na glebę.
4. Zamknąć szczelnie słoik korkiem.
5. Wyrównać do jednakowego poziomu płyn w naczyniach połączonych przez podniesienie słoika z płynem (i zanotować poziom początkowy). Ustawić kranik w takim położeniu, aby wydzielający się z gleby  $\text{CO}_2$  nie mógł wydostać się poza aparat.
6. Przechylić kolbę z próbką w takim stopniu, aby kwas wylał się z naczynka na glebę. Wydzielający się  $\text{CO}_2$  wypiera stopniowo ciecz z naczynia kalibrowanego. Przy bardzo dużej ilości wydzielającego się kwasu należy otworzyć kran boczny i wypuścić część płynu z lewego ramienia aparatu do naczynia rezerwowego.
7. Pomiar prowadzić aż do zaniku wydzielania się  $\text{CO}_2$ , o czym świadczy nie zmieniający się poziom płynu w naczyniach.
8. Odczytać objętość *v* wydzielonego  $\text{CO}_2$  (objętość wypartego płynu), odczytać z tabeli masę 1 cm<sup>3</sup>  $\text{CO}_2$  w zależności od temperatury i ciśnienia panującego w pomieszczeniu laboratoryjnym (parametr *d*).

### Obliczanie wyników:

$$\% \text{CaCO}_3 = \frac{d \times v}{s \times 10}$$

gdzie:

*d* - współczynnik masy  $\text{CaCO}_3$  odpowiadający wydzieleniu 1 cm<sup>3</sup>  $\text{CO}_2$  – odczytać z tabeli (poniżej),

*v* - objętość wydzielonego  $\text{CO}_2$  (cm<sup>3</sup>),

*s* - naważka gleby (g).

**Sprzęt:** waga, aparat Scheiblera,

**Szkło:** kolbka stożkowa 250 cm<sup>3</sup>, cylinderek miarowy 10 lub 25 cm<sup>3</sup>,

### Odczynniki

- 10% HCl – do kolby o pojemności 1000 cm<sup>3</sup> wlać ok. 0,5 litra wody destylowanej, dolać 240 cm<sup>3</sup> stężonego kwasu solnego i dopełnić do kreski.

---

<sup>1</sup> Przybliżoną zawartość węglanu wapnia można ustalić umieszczając niewielką próbkę gleby na szkiełku zegarkowym i traktując ją kilkoma kroplami 10% HCl. Przy silnym burzeniu naważka powinna wynosić 1-5 g, przy słabym i bardzo słabym 5-20 g.

**Masa CaCO<sub>3</sub> (mg) odpowiadająca 1 cm<sup>3</sup> wydzielonego CO<sub>2</sub>  
w zależności od temperatury i ciśnienia atmosferycznego**

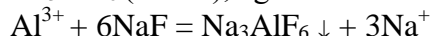
Temp. °C	Ciśnienie (hPa // mm Hg)														
	989	993	996	999	1001	1004	1006	1011	1013	1017	1020	1023	1025	1028	1031
	<b>742</b>	<b>745</b>	<b>747</b>	<b>740</b>	<b>751</b>	<b>754</b>	<b>756</b>	<b>758</b>	<b>760</b>	<b>763</b>	<b>765</b>	<b>767</b>	<b>769</b>	<b>771</b>	<b>774</b>
<b>28</b>	4,044	4,057	4,073	4,087	4,103	4,116	4,132	4,146	4,157	4,169	4,178	4,189	4,201	4,212	4,221
<b>27</b>	4,057	4,071	4,087	4,100	4,116	4,130	4,146	4,160	4,171	4,182	4,191	4,203	4,214	4,226	4,237
<b>26</b>	4,073	4,087	4,100	4,114	4,130	4,144	4,166	4,173	4,185	4,196	4,205	4,216	4,228	4,239	4,251
<b>25</b>	4,087	4,100	4,116	4,130	4,145	4,160	4,176	4,189	4,201	4,212	4,221	4,232	4,244	4,255	4,267
<b>24</b>	4,100	4,114	4,130	4,144	4,160	4,173	4,189	4,203	4,214	4,226	4,235	4,246	4,257	4,269	4,280
<b>23</b>	4,114	4,128	4,144	4,157	4,173	4,197	4,203	4,216	4,228	4,239	4,248	4,260	4,271	4,282	4,294
<b>22</b>	4,128	4,141	4,157	4,171	4,187	4,201	4,216	4,230	4,241	4,253	4,264	4,276	4,287	4,298	4,310
<b>21</b>	4,144	4,157	4,173	4,187	4,203	4,216	4,232	4,246	4,257	4,269	4,280	4,292	4,303	4,314	4,326
<b>20</b>	4,157	4,171	4,187	4,201	4,216	4,230	4,246	4,260	4,271	4,282	4,294	4,305	4,317	4,328	4,339
<b>19</b>	4,171	4,185	4,201	4,214	4,230	4,244	4,260	4,273	4,285	4,296	4,307	4,319	4,330	4,342	4,353
<b>18</b>	4,185	4,198	4,214	4,228	4,244	4,257	4,273	4,287	4,298	4,310	4,321	4,332	4,344	4,355	4,367
<b>17</b>	4,198	4,214	4,230	4,244	4,260	4,273	4,289	4,303	4,314	4,326	4,337	4,348	4,360	4,371	4,382
<b>16</b>	4,214	4,230	4,244	4,260	4,273	4,289	4,303	4,317	4,328	4,339	4,351	4,362	4,373	4,385	4,396
<b>15</b>	4,228	4,244	4,257	4,273	4,289	4,303	4,319	4,332	4,344	4,355	4,367	4,378	4,389	4,401	4,412

## 6. KWASOWOŚĆ WYMIENNA I GLIN WYMIENNY

Na kwasowość wymienną składają się czynne oraz wymiennie związane z kompleksem sorpcyjnym jony  $H^+$  i  $Al^{3+}$ . Jony  $Al^{3+}$  wypierane z kompleksu sorpcyjnego ulegają w roztworze hydrolizie, wiążąc aniony  $OH^-$  pochodzące z dysocjacji  $H_2O$  ( $H_2O \rightarrow H^+ + OH^-$ ), wskutek czego w roztworze pozostaje równoważna ilość kationów  $H^+$  powstałych z hydrolizy molekuł wody. Hydroliza jednego kationu  $Al^{3+}$  prowadzi do pojawienia się w roztworze trzech kationów  $H^+$ .

Oznaczenie kwasowości wymiennej polega na wyparciu z kompleksu sorpcyjnego wymiennych jonów  $H^+$  i  $Al^{3+}$  za pomocą roztworu obojętnej soli (1 M KCl), doprowadzeniu do hydrolizy  $Al^{3+}$  i odmiareczkowaniu roztworem zasady sodowej uwolnionych jonów wodorowych, pochodzących zarówno z bezpośredniej desorpcji z kompleksu sorpcyjnego, jak i powstałych wskutek hydrolizy  $Al^{3+}$ .

W podanej metodzie (w Polsce zwanej metodą Sokołowa) glin wymienny oblicza się z różnicy między całkowitą kwasowością wymienną a kwasowością pochodzącą wyłącznie od wodoru wymiennego, oznaczaną w roztworze, z którego usunięto glin zanim uległ on hydrolizie. Do usunięcia glinu z roztworu używa się fluorku sodu NaF, który tworzy z glinem trudno rozpuszczalny związek  $Na_3AlF_6$  (kriolit), zgodnie z reakcją:



Alternatywnie, stężenie glinu wymiennego w roztworze może być oznaczone bezpośrednio, metodą spektrofotometryczną, np. ICP, MP-AES.

### Wykonanie oznaczenia

1. Naważyć 25,0 g powietrznie suchej gleby i umieścić w butelce plastikowej o pojemności 500 cm<sup>3</sup>. W przypadku gleb o uziarnieniu piasku lub gleb o  $pH_{H_2O} > 5,5$  można użyć naważki 50,0 g.
2. Dodać 250 cm<sup>3</sup> roztworu 1 M KCl i wytrząsać przez 2 godz. na mieszadle obrotowym przy prędkości obrotowej około 40 obr./min.
3. Przesączyć zawiesinę przez średni sączek do szklanych kolb stożkowych o pojemności >250 cm<sup>3</sup>.
4. Przenieść pipetą po 50 cm<sup>3</sup> przesączu (objętości:  $v_1 = v_2 = 50$  cm<sup>3</sup>) do 2 kolbek stożkowych (przy miareczkowaniu ręcznym, kolorymetrycznym) lub do 2 wąskich zlewek/cylinderków (przy miareczkowaniu za pomocą titratora) o pojemności 100 cm<sup>3</sup>.
5. Do jednej z kolbek/zlewek dodać 3 cm<sup>3</sup> roztworu 3,5% NaF w celu strącenia jonów  $Al^{3+}$ .
6. Ekstrakty miareczkuje się roztworem 0,01 M NaOH z użyciem titratora automatycznego (potencjometrycznie), ustawionego na pH końcowe 8,2.
7. Jeśli odczyn gleb był kwaśny ( $pH_{H_2O}$  poniżej 5) i spodziewamy się wysokiej kwasowości, miareczkować można roztworem 0,05 M NaOH (co skraca czas miareczkowania), **ale tylko próbki bez dodatku NaF.**
8. Analogicznie (punkty 4-7) należy wykonać drugie oznaczenie (powtórzenie). Wyniki miareczkowań można uśrednić, jeśli różnica nie przekracza 10%.

Alternatywnie, przy braku titratora, miareczkowanie można wykonać tradycyjnie za pomocą biurety wobec fenoloftaleiny. Do kolbek z odpipetowanym przesączem dodać po kilka kropel fenoloftaleiny i miareczkować roztworem 0,01 M NaOH do lekko różowego zabarwienia, utrzymującego się przez 15–20 sekund. Miareczkowania wobec fenoloftaleiny nie zaleca się w przypadku silnego zabarwienia przesączy (np. przez związku humusowe).



## Obliczanie wyników:

Kwasowość wymienna  $K_w$  oblicza się na podstawie miareczkowania ekstraktów **bez dodatku NaF**, według wzoru:

$$K_w = a_1 \cdot n_1 \cdot 1000 / v_1 - \text{przy naważce 25 g} \\ (\text{lub } K_w = a_1 \cdot n_1 \cdot 500 / v_1 \text{ przy naważce 50 g})$$

gdzie :  $K_w$  – kwasowość wymienna gleby, cmol(+)/kg  
 $a_1$  – ilość cm<sup>3</sup> NaOH zużyta przy miareczkowaniu do zobojętnienia kwasowości wymiennej (**w próbce bez dodatku NaF**)  
 $v_1$  – objętość miareczkowanego ekstraktu (**próbka bez dodatku NaF**), cm<sup>3</sup>  
 $n_1$  – stężenie molowe roztworu NaOH (0,01 M lub 0,05 M)

Glin wymienny  $Al^{3+}_w$  oblicza się z różnicy między kwasowością wymienną  $K_w$  (ekstrakty bez dodatku NaF) i kwasowością powodowaną przez wymienne jony wodorowe  $H^+_w$  (ekstrakty z dodatkiem NaF):

$$Al^{3+}_w = K_w - H^+_w$$

czyli:

$$Al^{3+}_w = [(a_1 / v_1) \cdot n_1 - (a_2 / v_2) \cdot n_2] \cdot 1000 \quad \text{przy naważce 25 g} \\ (\text{lub } Al^{3+}_w = [(a_1 / v_1) \cdot n_1 - (a_2 / v_2) \cdot n_2] \cdot 500 \quad \text{przy naważce 50 g})$$

gdzie :  $Al^{3+}_w$  – glin wymienny w glebie, cmol(+)/kg  
 $H^+_w$  – wodór wymienny w glebie, cmol(+)/kg  
 $a_2$  – ilość cm<sup>3</sup> NaOH zużyta do zobojętnienia kwasowości pochodzącej tylko od wodoru wymiennego (w ekstrakcie z dodatkiem NaF)  
 $v_2$  – objętość miareczkowanego roztworu, do którego dodano NaF, cm<sup>3</sup>  
 $n_2$  – stężenie molowe roztworu NaOH użytego do miareczkowania próbki z NaF (z reguły 0,01 M)

**Jeśli do miareczkowania użyto te same objętości przesączu  $v_1=v_2=50 \text{ cm}^3$  i do obydwu miareczkowań użyto roztworu NaOH o stężeniu  $n_1=n_2=0,01 \text{ M}$ , wówczas wzór na  $Al^{3+}_w$  upraszcza się do postaci:**

$$Al^{3+}_w = 0,2 \cdot (a_1 - a_2) \quad (\text{cmol(+)/kg}), \text{ przy naważce gleby 25 g} \\ (\text{lub } Al^{3+}_w = 0,1 \cdot (a_1 - a_2) \quad (\text{cmol(+)/kg}), \text{ przy naważce gleby 50 g})$$

## Uwagi

1. Aby wyrazić zawartość glinu wymiennego w glebie w mg/kg należy wynik z miareczkowania pomnożyć przez masę 1 miligramorównoważnika  $Al^{3+}$  wynoszącą 90 mg/cmol(+), wg wzoru:  $Al^{3+}_w \text{ (mg/kg gleby)} = Al^{3+}_w \text{ (cmol(+)/kg)} \cdot 90 \text{ mg/cmol(+)}$
2. Jeśli stężenie glinu w roztworze ekstrakcyjnym ma być oznaczane metodą spektrometryczną (np. ICP, MP-AES), ekstrakt należy przesączyć przez **sączek twardy** oraz rozcieńczyć 5x lub 10x. Wynik oznaczenia, podany w mg/kg lub mg/l roztworu, należy skorygować o stopień rozcieńczenia, a następnie **pomnożyć razy 0,9** dla uzyskania wyniku w cmol(+)/kg gleby. Mnożnik ten ma zastosowanie wyłącznie przy porcji gleby do roztworu 1:10.

**Sprzęt:** waga laboratoryjna, mieszadło rotacyjne (obrotowe), biureta lub titrator automatyczny z mieszadłem magnetycznym i elektrodą pH

**Szkło i akcesoria:** butelki plastikowe o pojemności 500 cm<sup>3</sup> z korkami lub szczelnymi zakrętkami (do wytrząsania), kolby stożkowe o pojemności co najmniej 250 cm<sup>3</sup> (do sączenia), sączki 125 mm, pipeta szklana lub automatyczna do odmierzenia przesączu (50 cm<sup>3</sup>), kolby stożkowe lub zlewki o pojemności 100 cm<sup>3</sup> (do miareczkowania), cylinder miarowy 10 cm<sup>3</sup> lub osobna biureta (dozowanie NaF).

### **Odczynniki :**

- 1 M chlorek potasu: 74,5 g KCl rozpuścić w H<sub>2</sub>O i rozcieńczyć do 1000 cm<sup>3</sup>.
- Roztwór podstawowy 0,1 M zasady sodowej: zawartość pojemnika z fabrycznie przygotowaną naważką analityczną 4,00 g NaOH (tzw. fixanal) rozpuścić w H<sub>2</sub>O destylowanej w kolbie miarowej 1000 cm<sup>3</sup> i dopełnić do kreski.
- Roztwór 0,01 M NaOH do miareczkowania: dokładnie odmierzone 100 cm<sup>3</sup> roztworu 0,1 M NaOH przenieść ilościowo do kolby miarowej 1000 cm<sup>3</sup> i dopełnić do kreski H<sub>2</sub>O destylowaną (najlepiej świeżo przegotowaną w celu usunięcia CO<sub>2</sub>). Roztworu 0,01 M NaOH nie należy przechowywać dłużej niż 3 dni.
- Roztwór 0,05 M NaOH do miareczkowania: dokładnie odmierzone 250 cm<sup>3</sup> roztworu 0,1 M NaOH przenieść ilościowo do kolby miarowej 500 cm<sup>3</sup> i dopełnić do kreski H<sub>2</sub>O destylowaną. Roztworu 0,05 M NaOH nie należy przechowywać dłużej niż 3 dni.
- 3,5 % fluorek sodu: 3,5 g NaF rozpuścić w H<sub>2</sub>O i rozcieńczyć do 100 cm<sup>3</sup> (**Trucizna! Przygotowanie odczynnika i jego dozowanie wyłącznie w jednorazowych rękawiczkach PP lub lateksowych**)
- Opcja: 1 % roztwór fenoloftaleiny: 1 g fenoloftaleiny rozpuścić w 100 cm<sup>3</sup> alkoholu etylowego C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH (95 %)

## 7. KWASOWOŚĆ HYDROLITYCZNA

Kwasowość hydrolityczna odpowiada maksymalnej kwasowości gleby, która ujawnia się w warunkach obojętnego i lekko alkalicznego odczynu (możliwa jest wówczas desorpcja jonów  $H^+$  związanych przez t.zw. ładunki zmienne, zależne od pH, wynikające m.in. z dysocjacji grup -OH i -COOH substancji organicznej).

Kwasowość hydrolityczną oznacza się zasadniczo tylko dla gleb zakwaszonych, które podlegają mają wapnowaniu (kwasowość hydrolityczna służy wówczas do określenia dawki wapna). Celowość oznaczania kwasowości hydrolitycznej dla innych gleb (np. leśnych lub wapiennych) jest wątpliwa.

Zasada oznaczania kwasowości hydrolitycznej polega na wyparciu z kompleksu sorpcyjnego gleby wszystkich jonów wodorowych (w tym m.in. związanych przez ładunki zmienne) za pomocą hydrolizujących zasadowo octanów Ca lub Na i odmiareczkowaniu uwolnionych jonów wodorowych roztworem zasady sodowej.

Wartość kwasowości hydrolitycznej oznaczanej dla gleb silnie kwaśnych może zostać zafałszowana wskutek tworzenia w ekstrakcie trudno rozpuszczalnego żelu hydroksyoctanu glinowego.

### Wykonanie oznaczenia:

1. 15,0 g gleby powietrznie umieścić w butelce plastikowej o pojemności 500 cm<sup>3</sup>. W przypadku gleb o  $pH_{H_2O} > 6,5$  należy użyć naważki 30,0 g.
2. Dodać 150 cm<sup>3</sup> 1 M octanu sodu lub 0,5 M octanu wapnia i wytrząsać przez 2 godz. na mieszadło rotacyjnym przy prędkości obrotowej około 40 obr/min.
3. Zawiesinę przesączyć przez średni sączek, odrzucając pierwsze krople przesączu, tak aby uzyskać klarowny roztwór.
4. Z przesączu pobrać pipetą po 50 cm<sup>3</sup> (objętość  $v$ ) roztworu do dwóch zlewek o pojemności 100 cm<sup>3</sup>.
5. Przesącz miareczkuje się roztworem 0,1 M NaOH za pomocą titratora automatycznego (potencjometrycznie), ustawionego na pH końcowe 8,2, wynik z dwóch równoległych oznaczeń uśrednia się, jeśli nie różni się więcej niż o 10%.

Alternatywnie, przy braku titratora, miareczkowanie można wykonać tradycyjnie za pomocą biurety, wobec fenoloftaleiny. Do kolbek stożkowych z odpipetowanym przesączem dodać po kilka kropel fenoloftaleiny i miareczkować roztworem 0,1 M NaOH do lekko różowego zabarwienia, utrzymującego się przez 15–20 sekund. Miareczkowania wobec fenoloftaleiny nie zaleca się w przypadku silnego zabarwienia przesączu (np. przez związki humusowe), które utrudnia wychwycenie momentu zabarwienia się fenoloftaleiny.

### Obliczanie wyników:

Kwasowość hydrolityczną gleby oblicza się wg wzoru:

$$H_h = a \cdot n \cdot 1000 / v \quad - \text{ przy naważce 15 g}$$

$$(\text{lub } H_h = a \cdot n \cdot 500 / v \quad - \text{ przy naważce 30 g})$$

gdzie :  $H_h$  – kwasowość hydrolityczna gleby, cmol(+)/kg  
 $a$  – ilość cm<sup>3</sup> NaOH zużyta przy miareczkowaniu,  
 $n$  – stężenie molowe roztworu NaOH (zaleca się: 0,1 M)  
 $v$  – objętość roztworu wzięta do miareczkowania, cm<sup>3</sup> (domyślnie: 50 cm<sup>3</sup>)

**Sprzęt:** waga laboratoryjna, mieszadło obrotowe, titrator automatyczny lub biureta.

**Szkło i akcesoria:** butelki plastikowe o pojemności 500 cm<sup>3</sup> z korkami lub szczelnymi zakrętkami (do wytrząsania), kolby stożkowe lub butelki (do sączenia), sączki 110 lub 125 mm, zlewki (lub kolby stożkowe) o pojemności 100 cm<sup>3</sup> (do miareczkowania).

**Odczynniki:**

- 1 M octan sodu lub 0,5 M octan wapnia: 136,1 g krystalicznego CH<sub>3</sub>COONa · 3H<sub>2</sub>O (lub 82,0 g bezwodnego CH<sub>3</sub>COONa) albo 88,0 g (CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub>Ca · H<sub>2</sub>O rozpuścić w wodzie destylowanej i dopełnić do 1000 cm<sup>3</sup> w kolbie lub cylindrze miarowym
- 0,1 M roztwór zasady sodowej (o precyzyjnie ustalonym stężeniu): zawartość pojemnika z fabrycznie przygotowaną naważką analityczną 4,00 g NaOH (t.zw. fiksanału) rozpuścić w H<sub>2</sub>O destylowanej w kolbie miarowej 1000 cm<sup>3</sup> i dopełnić do kreski.
- Przy miareczkowaniu wobec fenoloftaleiny: 1% roztwór fenoloftaleiny: 1 g fenoloftaleiny rozpuścić w 100 cm<sup>3</sup> alkoholu etylowego C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH (95 %)

## 8. WYMIENNE KATIONY ZASADOWE

Wymienne kationy zasadowe: Ca, Mg, K i Na w glebie oznacza się po ich wyparciu z kompleksu sorpcyjnego gleby roztworem 1 M octanu amonowego o pH 7,0 (metoda uniwersalna, aktualnie powszechnie stosowana na świecie, np. na potrzeby klasyfikacji gleb w systematyce WRB oraz Soil Taxonomy) albo roztworem 1 M chlorku amonowego o pH 8,2 (metoda Pallmanna, stosowana w Polsce na wapnowanych glebach uprawnych), przy zastosowaniu dużego nadmiaru roztworu w stosunku do gleby.

### Wykonanie oznaczenia

#### Wariant 8.1 – z wytrząsaniem zawiesin (analizę w całości wykonuje się w 1 dzień)

1. Do butelki plastikowej o pojemności 100 cm<sup>3</sup> naważyć 1,25 g powietrznie suchej gleby. W przypadku próbek o uziarnieniu piasku lub próbek o pH<sub>H<sub>2</sub>O</sub><5,5 należy użyć naważki 2,50 g.
2. Naważkę gleby zalać 50 cm<sup>3</sup> roztworu ekstrakcyjnego (1 M CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub> albo 1 M NH<sub>4</sub>Cl).
3. Butelki z zawiesiną wytrząsać 2 godziny na wytrząsarce obrotowej (prędkość ok. 40 obr/min).
4. Zawiesinę przesączyć przez twardy sączonek do kolb stożkowych lub butelek plastikowych o pojemności co najmniej 50 cm<sup>3</sup>, odrzucając pierwszą porcję przesącza, tak aby uzyskać klarowny roztwór.
5. Stężenie pierwiastków (wapnia, magnezu, potasu i sodu) w przesącza oznaczyć metodą spektrofotometryczną (AAS, ICP lub inną równoważną). Należy pamiętać o zachowaniu pewnej ilości oryginalnego roztworu ekstrakcyjnego – jako próby zerowej oraz dodatku do wzorców przy wykreślaniu krzywek wzorcowej.

#### Wariant 8.2 – z odstawieniem zawiesin 3 dni (analiza trwa 4 dni)

1. Do butelki lub kolby o pojemności 100 cm<sup>3</sup> naważyć 1,25 g powietrznie suchej gleby. W przypadku próbek o uziarnieniu piasku lub próbek o pH<sub>H<sub>2</sub>O</sub><5,5 należy użyć naważki 2,50 g.
2. Naważkę gleby zalać 50 cm<sup>3</sup> roztworu ekstrakcyjnego (1 M CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub> albo 1 M NH<sub>4</sub>Cl).
3. Zawiesinę dokładnie wymieszać (wstrząsając), pozostawić butelki/kolby na 3 doby, co pewien czas wstrząsając zawiesinę (przynajmniej 4 razy dziennie).
4. Po 3 dniach zawiesinę przesączyć przez twardy sączonek do kolb stożkowych lub butelek plastikowych o pojemności co najmniej 50 cm<sup>3</sup>, odrzucając pierwszą porcję przesącza, tak aby uzyskać klarowny roztwór.
5. Stężenie pierwiastków (wapnia, magnezu, potasu i sodu) w przesącza oznaczyć metodą spektrofotometryczną (ICP, MP-AES, FAAS lub inną równoważną). Należy pamiętać o zachowaniu do analizy roztworu ekstrakcyjnego – jako próby zerowej oraz dodatku do wzorców przy wykreślaniu krzywek wzorcowej.

### Obliczanie wyników

Na potrzeby obliczenia pojemności sorpcyjnej gleby (pojemności wymiany kationów) oraz wysycenia kationami zasadowymi, wyniki oznaczeń podaje się w **cmol(+)/kg gleby**.

Aby przeliczyć wyniki oznaczenia stężeń z AAS/ICP (podane w ppm, mg/dm<sup>3</sup> lub mg/l) na **cmol(+)/kg**, należy oznaczone stężenia podzielić przez masy miligramorównoważników poszczególnych kationów, wyrażone w mg/cmol(+), które wynoszą: dla Ca: 40,08 g/mol / 2 (wartościowość) = 20,04 mg/mmol(+) czyli 200,4 mg/cmol(+), dla Mg: 122,5 mg/cmol(+), dla K: 391 mg/cmol(+) i dla Na: 230 mg/cmol(+).

Po uproszczeniu, stężenia pierwiastków przelicza się następująco:

$$\begin{aligned} \text{Ca}^{2+} &= a \cdot 0,20 && [\text{cmol}(+)/\text{kg gleby}], \\ \text{Mg}^{2+} &= a \cdot 0,327 && [\text{cmol}(+)/\text{kg gleby}], \\ \text{K}^{+} &= a \cdot 0,102 && [\text{cmol}(+)/\text{kg gleby}], \\ \text{Na}^{+} &= a \cdot 0,174 && [\text{cmol}(+)/\text{kg gleby}] \end{aligned}$$

gdzie: a - stężenie pierwiastka w roztworze ekstrakcyjnym, mg/dm<sup>3</sup> (lub mg/l, ppm)

**Jeśli zastosowano naważkę gleby 5 g, uzyskany wynik należy dodatkowo podzielić przez 2.**

**Sprzęt:** waga laboratoryjna, pehametr, mieszadło rotacyjne (obrotowe), dostęp do aparatu spektrometrycznego (ICP, AAS lub innego)

**Szkló i akcesoria:** kolby szklane o pojemności 100 cm<sup>3</sup> albo butelki plastikowe o pojemności >50 cm<sup>3</sup> (do wytrząsania); kolby stożkowe lub butelki o pojemności minimum 50 cm<sup>3</sup> (do sączenia); dozownik roztworu lub cylinder miarowy o poj. 50 cm<sup>3</sup>, sączki **twarde** średnicy 110 lub 125 mm.

#### **Odczynniki:**

- 1 M octan amonowy o pH 7,0: naważyć 77,08 g krystalicznego CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub> do zlewki o poj. 1000 cm<sup>3</sup> i rozpuścić w około 900 cm<sup>3</sup> wody destylowanej. Sprawdzić wartość pH roztworu - powinna wynosić 7,0. W razie potrzeby skorygować wartość pH dodając kroplami zasadę amonową (NH<sub>4</sub>OH,) lub kwas octowy. Odczyn roztworu sprawdza się potencjometrycznie. Następnie zawartość zlewki przenieść do kolby miarowej 1000 cm<sup>3</sup> (lub do cylindra miarowego 1000 cm<sup>3</sup>) i dopełnić do kreski wodą destylowaną.
- (alternatywnie) 1 M chlorek amonowy o pH 8,2: naważyć 53,5 g NH<sub>4</sub>Cl do zlewki o poj. 1000 cm<sup>3</sup> i rozpuścić w około 900 cm<sup>3</sup> wody destylowanej. Odczyn roztworu sprawdza się metodą potencjometryczną albo wobec fenoloftaleiny, pobierając niewielką próbkę roztworu na szkiełko zegarkowe. Należy uważać, aby nie przealkalizować roztworu. Zawartość zlewki przenieść ilościowo do kolby lub cylindra miarowego 1000 cm<sup>3</sup> i dopełnić do kreski wodą.

## 9. CAŁKOWITA ZAWARTOŚĆ WĘGLA ORGANICZNEGO METODA TIURINA

W metodzie tej utleniaczem węgla organicznego jest mieszanina dwuchromianu potasu i stężonego kwasu siarkowego ( $K_2Cr_2O_7 + H_2SO_4$ ). Utlenianie odbywa się w obecności katalizatora (siarczanu srebra), z podgrzewaniem zewnętrznym przez 5 minut. Jako reduktor nadmiaru utleniacza jest stosowany 0,1 M roztwór soli Mohra ( $FeSO_4/NH_4/2SO_4 \cdot 6H_2O$ ).

### Wykonanie oznaczenia

1. Odważyć na wadze analitycznej 0,10-0,50 g powietrznie suchej gleby, dobrze rozartej i przesianej przez sito o średnicy oczek 0,25 lub 0,1 mm. Naważka gleby powinna być dostosowana do przewidywanej zawartości próchnicy w próbce:

Przewidywana zawartość próchnicy [%]	Naważka [g]
7-10	0,10
5-7	0,20
2-5	0,30
<2	0,50

2. Przenieść naważkę gleby do kolby stożkowej o pojemności 100 cm<sup>3</sup> (z wąską szyjką).
3. Dodać szczyptę (ok. 0,05 g)  $Ag_2SO_4$  oraz z biurety półautomatycznej 10 cm<sup>3</sup> mieszaniny chromowej i ostrożnie wymieszać. Próbkę pozostawić do następnego dnia. **Nie wolno nalewać mieszaniny chromowej cylindrem miarowym (zbyt mała dokładność) ani pipetą bez pompki zasysającej (ze względów bezpieczeństwa)!**
4. Przykryć kolbę lejkiem o średnicy 4-6 cm i ustawić na nagrzaną płytce elektrycznej.
5. Doprowadzić mieszaninę do wrzenia i od tego momentu powoli gotować, dokładnie przez 5 minut (stoperem kontrolując czas wrzenia).
6. Ostudzić kolbę (odstawić na 20–30 min), a lejek spłukać nad kolbą z wewnętrznej i zewnętrznej strony wodą destylowaną z użyciem tryskawki. Spłukać także szyjkę i ścianki kolbki.
7. Roztwór powinien mieć zabarwienie pomarańczowożółte. Brudnozielone zabarwienie roztworu świadczy o niewystarczającej ilości utleniacza. W takim przypadku analizę należy powtórzyć z odpowiednio mniejszą naważką lub większą objętością mieszaniny chromowej.
8. Nadmiar pozostałego po reakcji  $K_2Cr_2O_7$  miareczkować 0,1 M roztworem soli Mohra używając orto-fenantroliny jako wskaźnika (3 krople dodać do kolbek bezpośrednio przed miareczkowaniem). Zabarwienie roztworu zmienia się podczas miareczkowania od brunatnego przez zielone do bordowego. Zmiana zabarwienia jest bardzo wyraźna.
9. Równoległe do analizy gleby, w ten sam sposób, prowadzi się oznaczenie „ślepej” próbki kontrolnej (bez gleby) również w 2-3 powtórzeniach. Dla zapewnienia wolnego i równomiernego wrzenia (co zabezpiecza  $K_2Cr_2O_7$  przed rozkładem) do kolbek kontrolnych dodaje się 0,1 g rozartego pumeksu.

### Obliczenia:

$$\% C_{\text{org}} = \frac{(K - P) \cdot n \cdot 0,003 \cdot 100}{s}$$

gdzie:

K - objętość soli Mohra [ $\text{cm}^3$ ] zużyta do zmiareczkowania „ślepej” próbki kontrolnej (odpowiada objętości  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  wziętej do utleniania C),

P - objętość soli Mohra [ $\text{cm}^3$ ] zużyta do zmiareczkowania badanej próbki,

n – stężenie molowe soli Mohra,

s - naważka gleby [g],

0,003 - masa węgla równoważona przez 1  $\text{cm}^3$  1 M soli Mohra,

100 - przeliczenie na procenty.

**Sprzęt:** sito o średnicy oczek 0,25 mm; waga analityczna; elektryczna płyta grzejna; stoper; biureta półautomatyczna (10  $\text{cm}^3$ ) do odmierzania mieszaniny chromowej, biureta do miareczkowania, moździerz

**Szkło:** kolbki stożkowe z wąskimi szyjkami (100  $\text{cm}^3$ ); małe lejki; tryskawka.

### Odczynniki

- stężony kwas siarkowy,
- mieszanina chromowa (0,068 M roztwór dwuchromianu potasu w kwasie siarkowym): 20 g  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  rozpuścić w 500  $\text{cm}^3$   $\text{H}_2\text{O}$ , następnie dodać 500  $\text{cm}^3$  stężonego  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Kwas należy dolewać porcjami (po ok. 100  $\text{cm}^3$ ), chłodząc butlę z mieszaniną.
- 0,1 M sól Mohra: 39,21 g  $\text{FeSO}_4(\text{NH}_4)\text{SO}_4 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$  rozpuścić w ok. 0,5 l wody, dodać 10  $\text{cm}^3$  stężonego  $\text{H}_2\text{SO}_4$  i dopełnić wodą do 1000  $\text{cm}^3$ . Roztwór soil Mohra należy przechowywać w ciemności i nie dłużej niż kilka dni. Do każdej serii oznaczeń należy oznaczyć rzeczywiste stężenie soil Mohra wobec 0,1 M roztworu  $\text{KMnO}_4$ ,
- 0,1 M mianowany roztwór nadmanganianu potasu: zawartość ampułki (fixanal) ilościowo przenieść do kolby miarowej 1000  $\text{cm}^3$  i dopełnić do kreski.
- orto-fenantrolina (indykator miareczkowania): 1,485 g o-fenantroliny oraz 0,695 g  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (nie mylić z solą Mohra!) rozpuścić w wodzie w kolbce miarowej 100  $\text{cm}^3$ , dopełnić do kreski. Należy użyć kolbki przeznaczonych specjalnie do tego celu! (silnie zabarwiona na czerwono).
- $\text{Ag}_2\text{SO}_4$  – krystaliczny,
- roztarty pumeks.



## 10. CAŁKOWITA ZAWARTOŚĆ AZOTU METODA KJELDAHLA (z destylacją w aparacie Parnasa-Wagnera)

Metoda Kjeldahla polega na przeprowadzeniu całkowitej zawartości azotu w próbce gleby do postaci amonowej i jego oznaczenie metodą destylacji. W tym celu dokonuje się rozkładu substancji organicznej gleby za pomocą stężonego kwasu salicylowo-siarkowego na gorąco. W tych warunkach azot amonowy przechodzi w  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ . Jako katalizatora reakcji dodaje się mieszaninę selenową ( $\text{CuSO}_4$ ,  $\text{K}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{SeSO}_4$  zmieszane w stosunku 1:1:1). Obecny w glebie azot azotanowy ulega redukcji w reakcji z tiosiarczanem sodu w obecności kwasu siarkowego. Po przejściu całkowitej ilości azotu w siarczan amonu, azot oznacza się metodą destylacji. Wskutek dodania zasady sodowej (w aparacie Parnasa-Wagnera) siarczan amonu ulega rozkładowi z wydzielaniem amoniaku, wiązanego następnie w odbieralniku przez kwas borowy. Ilość związanego przez kwas borowy  $\text{NH}_3$ , a na tej podstawie ilość azotu, określa się przez miareczkowanie 0,1 M kwasem solnym.

### Wykonanie oznaczenia

#### Etap I - mineralizacja

1. Odważyć 1,00 g powietrznie suchej gleby (0,50 g jeśli gleba jest silnie próchniczna) do szerokiej probówki mineralizacyjnej.
2. Dodać:
  - 5 cm<sup>3</sup> kwasu salicylowo-siarkowego,
  - 10 cm<sup>3</sup> stężonego  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,
  - szczyptę katalizatora reakcji - mieszaniny selenowej (ok. 0,2 g) oraz
  - 2 g tiosiarczanu sodu. Tiosiarczan powinien być dodawany pod wyciągiem, ze względu na możliwość wydzielania się  $\text{H}_2\text{S}$ . Zawartość probówki ostrożnie wymieszać, probówkę przykryć lejkiem i pozostawić w digestorium do następnego dnia.
3. Mineralizację początkowo należy prowadzić w niższej temperaturze, stopniowo ją zwiększając – zgodnie z instrukcją laborantki. Utrzymywać roztwór w stanie wrzenia tak długo aż ciecz ulegnie odbarwieniu.
4. Po ostygnięciu zawartość probówki mineralizacyjnej przenieść ilościowo do kolby miarowej o poj. 100 cm<sup>3</sup>, dodać 5 kropli czerwieni metylovej oraz uzupełnić wodą do kreski i dokładnie wymieszać.

#### Etap II - destylacja

5. Przygotowanie odbieralnika: przenieść z biurety 25 cm<sup>3</sup> 3% kwasu borowego do kolby stożkowej o pojemności 100 (lub 250) cm<sup>3</sup>, dodać 10 kropli wskaźnika Tashiro i umieścić pod chłodnicą w ten sposób, aby rurka była zanurzona w kwasie borowym.
6. Pobrać pipetą 25 cm<sup>3</sup> klarownego roztworu po mineralizacji i wlać do kolby aparatu destylacyjnego Parnasa – Wagnera przez lejek tulipanowy.
7. Odmierzyć cylinderkiem miarowym 25 cm<sup>3</sup> 33% NaOH i wlać do kolby destylacyjnej. Roztwór w kolbie powinien zmienić zabarwienie z czerwonego (malinowego) na żółte (miodowe). Przepłukać lejek tulipanowy wodą destylowaną i zamknąć kran lejka.
8. Włączyć grzałkę elektryczną podgrzewającą kolbę z wodą destylowaną, aby powstająca para wodna doprowadziła do wrzenia zawartość kolby destylacyjnej. Uwolniony amoniak wraz z parą wodną przechodzi przez chłodnicę do odbieralnika.
9. Destylację prowadzić do momentu, aż objętość roztworu w kolbce stożkowej zwiększy się do 2-3 krotnie, a jego barwa zmieni się z niebieskiej na morską. Przerwanie destylacji następuje w momencie wyłączenia grzałki elektrycznej.
10. Spłukać koniec chłodnicy wodą za pomocą tryskawki.

### Etap III - miareczkowanie

11. Miareczkować amoniak związany przez kwas borowy roztworem 0,1-molowym HCl do zmiany zabarwienia z zielonkawego do niebieskiego.

#### Obliczanie wyników

$$\% N = \frac{(P - K) \times 0,014 \times 0,1 \times 100}{s}$$

Gdzie :

P – objętość 0,1 M HCl zużyta do miareczkowania roztworu po destylacji [cm<sup>3</sup>]

K – objętość 0,1 M HCl zużyta do miareczkowania kontroli – 25 cm<sup>3</sup> 3% H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>

0,014 – ilość N odpowiadająca 1 cm<sup>3</sup> 0,1 M HCl

0,1 – stężenie molowe HCl użytego do miareczkowania

100 – przeliczenie na procenty

s – masa gleby dla jakiej odnosi się wynik miareczkowania, wyznaczona z równania:

$$s = \frac{n \times d}{v}$$

gdzie:

n – naważka gleby [g],

d – objętość roztworu (wyciągu) użyta do destylacji [cm<sup>3</sup>],

v – objętość kolby miarowej wypełnionej roztworem po mineralizacji [cm<sup>3</sup>]

na ogół (zgodnie z przepisem): v=100 cm<sup>3</sup>, d=25 cm<sup>3</sup>, wówczas s = n x 0,25 [g]

**Sprzęt:** waga analityczna, blok mineralizacyjny, aparat Parnasa - Wagnera, biurety do odmierzenia kwasu borowego i miareczkowania

**Szkło:** probówka mineralizacyjna (szeroka), kolba miarowa (100 cm<sup>3</sup>), cylinderek miarowy (50 cm<sup>3</sup>), pipeta (25 cm<sup>3</sup>), kolbka stożkowa (100 lub 250 cm<sup>3</sup>), tryskawka.

#### Odczynniki

- stężony H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>,
- kwas salicylowo-siarkowy: 60 g kwasu salicylowego rozpuścić w 1 l stężonego H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>,
- mieszanina selenowa,
- tiosiarczan sodu (krystaliczny),
- 33% roztwór NaOH: 330 g granulatu NaOH rozpuścić w ok. 0,6 l wody destylowanej i dopełnić do 1000 cm<sup>3</sup>,
- 3% kwas borowy: 30 g H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> rozpuścić w ok. 0,5 l H<sub>2</sub>O i dopełnić do 1000 cm<sup>3</sup>,
- 0,1 M kwas solny: zawartość ampułki (tzw. fixanal) ilościowo przenieść do kolby miarowej 1000 cm<sup>3</sup> i dopełnić wodą do kreski.
- czerwień metylowa: 0,2 g czerwieni rozetrzeć w moździerz i rozpuścić w 100 cm<sup>3</sup> alkoholu etylowego (należy użyć moździerza i kolby miarowej przeznaczonych specjalnie do tego celu)
- wskaźnik Tashiro: rozetrzeć 0,03 g czerwieni metylowej, dodać 0,1 g błękitu metylowego, rozpuścić w 20 cm<sup>3</sup> wody destylowanej i dopełnić do 100 cm<sup>3</sup> alkoholem etylowym (należy użyć moździerza i kolby miarowej przeznaczonych specjalnie do tego celu).

## 11. PRYSWAJALNE FORMY FOSFORU, POTASU I MAGNEZU METODA EGNERA-RIEHMA I SCHACHTSCHABELA

Dla gleb użytkowanych rolniczo opracowano procedurę oceny ich zasobności w przyswajalne dla roślin formy makroskładników: fosforu, potasu i magnezu w oparciu o wyniki ekstrakcji tych pierwiastków z gleby, zgodnie z metodą Egnera-Riehma (dla P i K) oraz Schachtschabela (dla Mg).

### 11.1. ROZPUSZCZALNY (“PRYSWAJALNY”) FOSFOR I POTAS METODA EGNERA-RIEHMA

Metoda polega na ekstrakcji fosforu i potasu z gleby roztworem mleczanu wapnia buforowanym do pH ok. 3,6. Zakłada się, że formy fosforu i potasu ekstrahowane tym odczynnikiem stanowią pulę obu pierwiastków przyswajalną dla roślin. Liczby graniczne, określające stopień zasobności gleb w fosfor i potas, stosowane w Stacjach Chemiczno-Rolniczych, odnoszą się wyłącznie do tej metody ekstrakcji.

**Uwaga:** Roztwory zawierające mleczan wapnia są bardzo nietrwałe. Oznaczenia fosforu i potasu w próbkach muszą być więc wykonane najpóźniej następnego dnia po przeprowadzeniu ekstrakcji.

#### Etap I. Wykonanie oznaczenia

1. 2,00 g suchej gleby umieścić w butelce plastikowej o pojemności co najmniej 120 cm<sup>3</sup>.
2. Dodać 100 cm<sup>3</sup> świeżo przygotowanego roztworu 0,04 M mleczanu wapnia o pH 3,55 (± 0,05). Jednocześnie przygotować także kontrolną próbę „ślepą” - bez gleby.
3. Wytrząsać przez 1,5 godz. na mieszadle rotacyjnym przy prędkości obrotowej około 40 obr./min.
4. Przesączyć przez średni sączek, odrzucając pierwszą porcję (kilka cm<sup>3</sup>) przesączu, tak aby uzyskać klarowny roztwór. Używać sączków bezfosforowych i bezpotasowych.
5. Z uzyskanego przesączu pobierane będą 2 próbki roztworu, każda o objętości 25 cm<sup>3</sup> - jedna do analizy P, druga - do analizy K.
6. Równolegle należy przygotować roztwory wzorcowe (w porcjach o tej samej objętości  $v = 25 \text{ cm}^3$ ), zawierające zróżnicowane stężenia K i P. Sposób przygotowania roztworów wzorcowych o stężeniach odpowiadających zakresowi zawartości od 0 do 50 mg/100g gleby K<sub>2</sub>O oraz P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> opisano poniżej.

#### Etap II. Przygotowanie roztworów wzorcowych

1. Przygotować nietrwały roboczy roztwór wzorcowy P i K, zawierający w 1 cm<sup>3</sup>: 0,1 mg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> i 0,1 mg K<sub>2</sub>O, rozcieńczając 10-krotnie zapasowy roztwór wzorcowy. Na sporządzenie dwóch serii wzorców (jednej - do analizy K i drugiej - do analizy P) potrzeba ok. 350 cm<sup>3</sup> roboczego roztworu wzorcowego. Aby przygotować 500 cm<sup>3</sup> tego roztworu, należy dokładnie odmierzoną objętość 50 cm<sup>3</sup> (pipetą: 2 x 25 cm<sup>3</sup>) zapasowego roztworu wzorcowego rozcieńczyć wodą destylowaną w kolbie miarowej 500 cm<sup>3</sup>.
2. Przygotować roztwory do krzywych wzorcowych, odmierzając pipetą podane w tabeli ilości roztworów: zapasowego 0,8 M mleczanu wapnia oraz roboczego roztworu wzorcowego P i K (0,1 mg/cm<sup>3</sup>), i dopełniając do 200 cm<sup>3</sup> wodą destylowaną (w kolbach miarowych 200 cm<sup>3</sup>).

3. Oznaczenie stężenie P i K w roztworach wykonuje się metoda spektrometryczną (ICP, MP-AES lub równoważną)

objętość roboczego roztworu wzorcowego P i K (o stęż. 0,1 mg/cm <sup>3</sup> ) cm <sup>3</sup>	objętość zapasowego roztworu mleczanu wapnia (0,8-molowego) cm <sup>3</sup>	Roztwory zawierają P i K w stężeniach odpowiadających następującym zawartościom w glebie:	
		mg P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> / 100g gleby	mg K <sub>2</sub> O / 100g gleby
0	10	0	0
1	10	2,5	2,5
2	10	5	5
4	10	10	10
6	10	15	15
8	10	20	20
10	10	25	25
12	10	30	30
20	10	50	50

**Sprzęt:** waga laboratoryjna, mieszadło rotacyjne

**Szkló i akcesoria:** butelki plastikowe o pojemności co najmniej 120 cm<sup>3</sup> z korkami lub szczelnymi zakrętkami, butelki lub kolby stożkowe do sączenia zawiesiny, lejki, sączki 110 lub 125 mm, pipeta 25 cm<sup>3</sup> do odmierzania przesączu, tryskawka z H<sub>2</sub>O destylowaną, kolby miarowe 200 cm<sup>3</sup> do sporządzenia wzorców.

### Odczynniki

- Roztwór zapasowy mleczanu wapnia (0,8 M roztwór mleczanu wapnia w 0,4 M HCl): 30 g mleczanu wapnia Ca(CH<sub>3</sub>CHOHCOO)<sub>2</sub> · 5 H<sub>2</sub>O rozpuścić w ok. 200 cm<sup>3</sup> gorącej wody destylowanej w kolbie miarowej 250 cm<sup>3</sup>. Dodać 10 cm<sup>3</sup> 10 M HCl (przygotowanego przez dopełnienie 82,5 cm<sup>3</sup> stężonego HCl wodą destyl. do 100 cm<sup>3</sup>). Podgrzać do rozpuszczenia (nie dopuszczając do wrzenia!). Ostudzić, uzupełnić do kreski (do 250 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 (0,04 M roztwór mleczanu wapnia w 0,02 M HCl), pH około 3.55. Roztwór roboczy przygotować rozcieńczając 20-krotnie roztwór zapasowy mleczanu wapnia.
- Roztwór wzorcowy P i K - zapasowy. Roztwór zapasowy zawiera 1 mg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> i 1 mg K<sub>2</sub>O w 1 ml: 0,958 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> + 0,267 g KCl rozcieńczyć do 500 cm<sup>3</sup>. Można dodać 2 krople formaliny. Roztwór przechowywać w lodówce.
- Roboczy roztwór wzorcowy P i K. Roztwór roboczy zawiera 0,1 mg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> i 0,1mg K<sub>2</sub>O w 1 cm<sup>3</sup>. Aby go przygotować, należy rozcieńczyć roztwór zapasowy 10-krotnie.

## 11.2. ROZPUSZCZALNY (“PRYSWAJALNY”) MAGNEZ METODA SCHACHTSCHABELA

Metoda polega na ekstrakcji magnezu z gleby roztworem 0,0125 M CaCl<sub>2</sub>, przy stosunku gleby do roztworu m:v wynoszącym 1:10. Zakłada się, że formy magnezu ekstrahowane tym odczynnikiem stanowią pulę przyswajalną dla roślin. Liczby graniczne, określające stopień

zasobności gleb w magnez, stosowane w Stacjach Chemiczno-Rolniczych, odnoszą się wyłącznie do tej metody ekstrakcji.

### Wykonanie oznaczenia

1. 5,00 g suchej gleby umieścić w butelce plastikowej o pojemności co najmniej 60 cm<sup>3</sup>
2. Dodać 50 cm<sup>3</sup> roztworu 0,0125 M CaCl<sub>2</sub>.
3. Wytrząsać przez 2 godz. na mieszadło rotacyjnym przy prędkości obrotowej około 40 obr./min.
4. Przesączyć przez twardy sączek, odrzucając pierwsze krople przesączu, tak aby uzyskać klarowny roztwór.
5. Zawartość Mg w ekstrakcie oznaczać metodą AAS, ICP, MP-AES lub inną, równoważną. Wyniki odczytuje się w mg/dm<sup>3</sup> (ppm) w analizowanym roztworze, co odpowiada liczbowo także zawartości rozpuszczalnego Mg w 100 g gleby

$$Mg_p = a \cdot (mg \text{ Mg}/100 \text{ g gleby})$$

gdzie: Mg<sub>p</sub> - zawartość w glebie Mg przyswajalnego dla roślin (mg Mg/100 g gleby)  
a - stężenie Mg w ekstrakcie, mg/dm<sup>3</sup> (ppm)

**Sprzęt:** waga laboratoryjna, mieszadło rotacyjne, spektrofotometr

**Szkło i akcesoria:** butelki plastikowe o pojemności co najmniej 60 cm<sup>3</sup> z korkami lub szczelnymi zakrętkami, butelki lub kolby stożkowe 100 cm<sup>3</sup> (do sączenia), lejki, sączki twarde 110 lub 125 mm.

### Odczynniki:

- 0,0125 M chlorek wapnia CaCl<sub>2</sub> - 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 H<sub>2</sub>O i dopełnić (w kolbie miarowej) do 1000 cm<sup>3</sup>

## 12. PRZYSWAJALNE FORMY MAKRO- I MIKROSKŁADNIKÓW

### METODA MEHLICH-3

#### Wykonanie oznaczenia

1. 2,00 g suchej gleby umieścić w butelce plastikowej o pojemności 50 cm<sup>3</sup>
2. Dodać 20 cm<sup>3</sup> roztworu Mehlich-3. Zalewać nie więcej niż 10 próbek jednocześnie. **Próbka nie może stać po zalaniu dłużej niż 2 minuty bez wytrząsania.**
3. Wytrząsać (**jak najintensywniej**) dokładnie 5 minut.
4. Przefiltrować przez sączki średnie. **Próbka musi być przefiltrowana natychmiast po wytrząsaniu.**
5. Przesączyć przez twardy sączek, odrzucając pierwsze krople przesączu, tak aby uzyskać klarowny roztwór.
6. Zawartość fosforu i innych składników w ekstrakcie oznaczać metodą ICP, MP-AES lub inną, równoważną.

Wyniki oznaczeń (w mg/l, mg/dm<sup>3</sup> lub ppm) przelicza się na kilogram gleby

$$P_{M3} = a \cdot 10 \text{ (mg P/kg gleby)}$$

gdzie:  $P_{M3}$  - zawartość w glebie P przyswajalnego (mg P/kg gleby)  
a - stężenie P w ekstrakcie, mg/dm<sup>3</sup> (ppm)

**Sprzęt:** waga laboratoryjna, mieszadło rotacyjne, spektrofotometr

**Szkló i akcesoria:** butelki plastikowe o pojemności co 50 cm<sup>3</sup> z korkami lub szczelnymi zakrętkami, butelki 50 cm<sup>3</sup> (do sączenia), sączki twarde 110 mm.

**Wszystkie butle i cylinderki wyłącznie plastikowe, nie szklane (ze względu na dodatek NH<sub>4</sub>F)**

#### Odczynniki:

Odczynniki niezbędne do przygotowania roztworu ekstrakcyjnego:

- NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> czda,
- NH<sub>4</sub>F czda,
- EDTA-H<sub>2</sub> czda
- kwas octowy (stężony)
- kwas azotowy (stężony)

Przygotowanie roztworu ekstrakcyjnego (w naczyniu plastikowym 1 litr, na około 45 próbek gleby):

- użyć kolby miarowej lub wykalibrować naczynie plastikowe do objętości 1 litra,
- ustawić naczynie na mieszadle magnetycznym, wlać 400 ml wody destylowanej,
- dodać 20 g NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> (mieszać minimum 10 minut),
- odważyć 0,556 g NH<sub>4</sub>F do czystej nieużywanej łożeczki, którą po użyciu należy wyrzucić. Dodać do roztworu ekstrakcyjnego (mieszać około 1 godziny),
- odważyć 0,292 g EDTA-H<sub>2</sub>, dodać do roztworu ekstrakcyjnego (mieszać około 3 godzin lub nawet przez całą noc),
- dodać 11,5 ml kwasu octowego odmierzonego za pomocą cylindra plastikowego (mieszać 15 minut),

- dodać 0,8 ml kwasu azotowego odmierzonego za pomocą cylindra plastikowego (mieszać 15 minut),
  - dopełnić wodą do 1 litra, mieszać jeszcze przez godzinę.
  - pH roztworu powinno być  $2,5 \pm 0,1$ . Adjustować za pomocą 1M HCl lub 1M NH<sub>4</sub>OH.
- Przed każdym pomiarem pH mieszać roztwór przez minimum 15 minut!

### 13. MINERALIZACJA GLEB KWASEM NADCHLOROWYM ZAWARTOŚĆ PIERWIASTKÓW ŚLADOWYCH ZBLIŻONA DO CAŁKOWITEJ

#### Wykonanie oznaczenia

1. 1,00 g gleby roztartej tak, by przechodziła przez sito 0,25 mm, odważyć do szklanych probówek mineralizacyjnych (w dwóch powtórzeniach).
2. Dodać 10 cm<sup>3</sup> stężonego kwasu nadchlorowego za pomocą dozownika.
3. Równolegle przygotować 2 próby kontrolne (bez gleby), umieszczając w probówkach wyłącznie kwas nadchlorowy.
4. Probówki mineralizacyjne nakryć szklanymi „chłodniczkami smoczkowymi” wypełnionymi wodą lub szklanymi lejkami o średnicy 4-6 cm i pozostawić do następnego dnia (w przypadku niewielkiej ilości próchnicy i węglanów, mineralizację można prowadzić bezpośrednio po zalaniu próbek kwasem).
5. Mineralizację początkowo należy prowadzić w niższej temperaturze (ok. 120<sup>0</sup>C), stopniowo ją zwiększając (do ok. 250<sup>0</sup>C). Utrzymywać roztwór w stanie wrzenia aż do jasno żółtej barwy lub całkowitego odbarwienia zawiesiny.
6. Zdjąć probówki z mineralizatora, wystudzić, a ekstrakt przenieść ilościowo do kolb miarowych o pojemności 50 cm<sup>3</sup>.
7. Kolby dopełnić do kreski, następnie ekstrakt przesączyć przez twarde sączki do kolb szklanych o pojemności co 100 cm<sup>3</sup> lub butelek plastikowych.
8. Oznaczenie zawartości pierwiastków śladowych w wyciągach wykonuje się metodą ASA, ICP, MP-AES lub równoważną. Jeśli okaże się to konieczne, przesącz należy dodatkowo rozcieńczyć.

Przeliczenie wyników:

$$Me = 50 \cdot a \quad (\text{mg/kg gleby})$$

gdzie: Me - zawartość metalu w glebie, mg/kg gleby

a - oznaczone stężenie pierwiastka w ekstrakcie, mg/dm<sup>3</sup> (mg/l, ppm)

50 - stosunek gleby do roztworu (przeliczenie na 1 kg gleby)

**Sprzęt:** waga analityczna, blok mineralizacyjny (układ otwarty), dozownik kwasu nadchlorowego

**Szklano:** szklane probówki mineralizacyjne, kolby miarowe 50 cm<sup>3</sup>, butelki plastikowe lub kolby szklane o pojemności ok. 100 cm<sup>3</sup> (do sączenia), chłodniczki smoczkowe lub szklane lejki 40-60 mm (do mineralizacji), lejki szklane lub plastikowe (do sączenia), sączki twarde 110 mm, tryskawka z wodą destylowaną.

**Odczynniki:** 60-70% kwas nadchlorowy HClO<sub>4</sub> (stosowany bez rozcieńczenia).



## 14. MINERALIZACJA GLEB „WODĄ KRÓLEWSKĄ” ZAWARTOŚĆ PIERWIASTKÓW ŚLADOWYCH ZBLIŻONA DO CAŁKOWITEJ

### Wykonanie oznaczenia

#### Procedura 14.1: w bloku mineralizacyjnym, w układzie otwartym

1. 1,00 g gleby roztartej tak, by przechodziła przez sito 0,25 mm, odważyć do szklanych probówek mineralizacyjnych (w dwóch powtórzeniach).
2. Za pomocą dozowników dodać 7,5 cm<sup>3</sup> stężonego kwasu solnego, a następnie 2,5 cm<sup>3</sup> stężonego kwasu azotowego („woda królewska” jest mieszaniną kwasu solnego i azotowego w proporcji 3:1). Natychmiast nakryć szklanymi „chłodniczkami smoczkowymi” wypełnionymi wodą lub szklanymi lejkami o średnicy 4-6 cm. W związku z wydzielaniem się szkodliwych oparów, procedura musi być wykonywana w digestorium ze sprawnie działającym wyciągiem!
3. Równolegle przygotować 2 próby kontrolne (bez gleby), umieszczając w probówkach wyłącznie wodę królewską.
4. Probówki mineralizacyjne pozostawić do następnego dnia (w przypadku niewielkiej ilości próchnicy i węglanów, mineralizację można prowadzić bezpośrednio po zalaniu próbek kwasami).
5. Mineralizacja trwa 3 godziny. Początkowo należy ją prowadzić w niższej temperaturze (ok. 100<sup>0</sup>C), stopniowo ją zwiększając (do ok. 200<sup>0</sup>C). Utrzymywać roztwór w stanie wrzenia, regularnie sprawdzając, czy kwasy nie uległy nadmiernemu odparowaniu. Jeśli z probówki ubyło więcej niż 30% mieszaniny kwasów, probówkę należy zdjąć z bloku, wystudzić i uzupełnić kwasem solnym i azotowym w proporcji 3:1. Mineralizacja trwa 3 godziny, nawet jeśli próbki gleby lub zawiesina nie odbarwią się.
6. Zdjąć probówki z mineralizatora, wystudzić, a ekstrakt przenieść ilościowo do kolb miarowych o pojemności 50 cm<sup>3</sup>.
7. Kolby dopełnić do kreski, następnie ekstrakt przesączyć przez twarde sączki do kolb szklanych o pojemności co 100 cm<sup>3</sup> lub butelek plastikowych.
8. Oznaczenie zawartości pierwiastków śladowych w wyciągach wykonuje się metodą ASA, ICP, MP-AES lub równoważną. Jeśli okaże się to konieczne, przesącz należy dodatkowo rozcieńczyć.

#### Przeliczenie wyników:

$$Me = 50 \cdot a \quad (\text{mg/kg gleby})$$

gdzie: Me - zawartość metalu w glebie, mg/kg gleby

a - oznaczone stężenie pierwiastka w ekstrakcie, mg/dm<sup>3</sup> (mg/l, ppm)

50 - stosunek gleby do roztworu (przeliczenie na 1 kg gleby)

**Sprzęt:** waga analityczna, blok mineralizacyjny (układ otwarty), dozowniki kwasu solnego i azotowego

**Szkló:** szklane probówki mineralizacyjne, kolby miarowe 50 cm<sup>3</sup>, butelki plastikowe lub kolby szklane o pojemności ok. 100 cm<sup>3</sup> (do sączenia), chłodniczki smoczkowe lub szklane lejki 40-60 mm (do mineralizacji), lejki szklane lub plastikowe (do sączenia), sączki twarde 110 mm, tryskawka z wodą destylowaną.

#### Odczynniki:

- kwas solny – stężony,
- kwas azotowy – stężony.

### **Procedura 14.2: w piecu mikrofalowym, w układzie zamkniętym**

(Wkrótce zostanie uzupełniona).

Przeliczenie wyników:

$$Me = 100 \cdot a \quad (\text{mg/kg gleby})$$

gdzie: Me - zawartość metalu w glebie, mg/kg gleby

a - oznaczone stężenie pierwiastka w ekstrakcie, mg/dm<sup>3</sup> (mg/l, ppm)

100 - stosunek gleby do roztworu (przeliczenie na 1 kg gleby)

**Sprzęt:** waga analityczna, piec mikrofalowy (układ zamknięty), dozowniki kwasu solnego i azotowego

**Szkło:** teflonowe naczynia mineralizacyjne, kolby miarowe 50 cm<sup>3</sup>, butelki plastikowe lub kolby szklane o pojemności ok. 100 cm<sup>3</sup> (do sączenia), lejki szklane lub plastikowe (do sączenia), sączki twarde 110 mm, tryskawka z wodą destylowaną.

#### **Odczynniki:**

- kwas solny – stężony,
- kwas azotowy – stężony

## 15. MINERALIZACJA MATERIAŁU ORGANICZNEGO NA SUCHO

### CAŁKOWITA ZAWARTOŚĆ PIERWIASTKÓW ŚLADOWYCH

#### Wykonanie oznaczenia

1. Do kwarcowej lub szklanej parownicy odważyć 5,00 g powietrznie suchego, zmielonego materiału organicznego (rośliny, ściółka, torf, komposty, osady itd.).
2. Wstawić do pieca muflowego i spalać powoli w temperaturze 150-200<sup>0</sup>C (przez co najmniej godzinę), następnie temperaturę ustawić na 450<sup>0</sup>C na co najmniej 4 godziny. Po wyłączeniu pieca parownicę pozostawić w nim do wystygnięcia. Po dobrze przeprowadzonym spalaniu popiół jest szarobiały lub szary, jedynie przy dużej zawartości pierwiastków metalicznych popiół może mieć inne zabarwienie.
3. Popiół zwilżyć odrobiną wody destylowanej (z tryskawki) oraz dozownikiem lub cylinderkiem dodać 2 cm<sup>3</sup> stężonego kwasu azotowego.
4. Równolegle przygotować 2 próby kontrolne (bez popiołu), dodając do parownic wyłącznie wodę i kwas.
5. Zawartość parownicy odparować do sucha na płycie grzejnej lub łaźni.
6. Próbę wstawić ponownie do pieca i prażyć przez 1 godzinę w temperaturze 450<sup>0</sup>C.
7. Po wystudzeniu popiół zwilżyć wodą destylowaną i dodać 5 cm<sup>3</sup> kwasu solnego (roztwór 1:1). Występuje „burzenie” będące przejawem rozkładu węglanów. Jeśli popiół nie przeszedł do zawiesiny, dodać kolejną porcję kwasu solnego i ostrożnie wymieszać.
8. Ekstrakt przenieść ilościowo do kolb miarowych o pojemności 50 cm<sup>3</sup>.
9. Kolby dopełnić do kreski, następnie ekstrakt przesączyć przez twarde sączi do kolb szklanych 100 cm<sup>3</sup> lub butelek plastikowych
10. Oznaczenie zawartości pierwiastków śladowych w wyciągach wykonuje się metodą AAS, ICP, MP-AES lub inną, równoważną. Jeśli okaże się to konieczne, przesącz należy dodatkowo rozcieńczyć.

Przeliczenie wyników:

$$Me = 10 \cdot a \quad (\text{mg/kg gleby/materiału})$$

gdzie: Me - zawartość metalu w glebie/materiale, mg/kg gleby/materiału

a - oznaczone stężenie pierwiastka w ekstrakcie, mg/dm<sup>3</sup> (mg/l, ppm)

10 - stosunek gleby do roztworu (przeliczenie na 1 kg gleby/materiału)

**Sprzęt:** waga analityczna, piec mufłowy, płyta grzejna lub łaźnia wodna, dozownik kwasu azotowego i solnego

**Szkló:** parownica szklana lub kwarcowa, kolba miarowa 50 cm<sup>3</sup>, butelka plastikowa lub kolba szklana o pojemności 100 cm<sup>3</sup>, lejki 40-60 mm (szklane lub plastikowe), sączi twarde 110 mm, tryskawka z wodą destylowaną.

#### Odczynniki:

- kwas azotowy – stężony,
- kwas solny 1:1 (objętościowo).

## 16. ROZPUSZCZALNE/PRZYSWAJALNE FORMY PIERWIASTKÓW ŚLADOWYCH W GLEBIE

Przyswajalność metali ciężkich dla roślin (a także mikroflory i fauny glebowej) zależy nie tyle od całkowitej zawartości metali w glebie ile od form, w jakich występują. Przyjmuje się, że pulę metali ciężkich przyswajalną dla roślin stanowi ich ilość rozpuszczalna w odpowiednio dobranym roztworze ekstrakcyjnym.

### 16.1. POTENCJALNIE ROZPUSZCZALNE FORMY PIERWIASTKÓW ŚLADOWYCH EKSTRAKCJA W DTPA (WG NORMY ISO)

Test DTPA opracowany został przez Lindsaya i Norvella (1978) dla oceny fitoprzyswajalności mikroelementów: Cu, Fe, Mn i Zn w glebach alkalicznych. Obecnie wykorzystywany jest do ekstrakcji metali ciężkich w różnych glebach, m.in. zanieczyszczonych, niezależnie od ich odczynu. Test posiada status normy ISO (DIS 14870). Metoda polega na ocenie zawartości w glebie form metali ciężkich ekstrahowanych roztworem 0,005 M DTPA + 0,1 M TEA (trietanoloamina) + 0,01 M CaCl<sub>2</sub>, o pH 7,3.

#### Wykonanie analizy

1. Naważyć 10,0 g suchej gleby do plastikowych butelek o pojemności 50 cm<sup>3</sup>. W glebach organicznych należy użyć naważki 2,00 g.
2. Dodać 20 cm<sup>3</sup> roztworu DTPA
3. Mieszać zawartość przez 2 godz. na mieszadle rotacyjnym z szybkością ok. 40 obr/min., w temp. ok. 20°C
4. (Zalecane: odwirować w celu oddzielenia ekstraktu (10 minut, 3000 G))
5. Przesączyć supernatant (lub zawiesinę) przez twardy sącdek do plastikowych butelek plastikowych lub kolb stożkowych 50-100 cm<sup>3</sup>, odrzucając pierwsze krople przesącza,
6. (Zalecane: dodatkowo supernatant przesączyć przez membranę 0,2 μm lub 0,45 μm)
7. Zawartości metali w ekstraktach oznacza się metodą AAS, ICP, MP-AES lub inną równoważną.

Przeliczenie wyników na mg/kg gleby

$$\begin{aligned} M_{\text{DTPA}} &= 2 \cdot a && \text{(mg/kg gleby)} && \text{(gleby mineralne, naważka 10 g), lub} \\ M_{\text{DTPA}} &= 10 \cdot a && \text{(mg/kg gleby)} && \text{(gleby organiczne, naważka 2 g)} \end{aligned}$$

gdzie:

$M_{\text{DTPA}}$  - zawartość w glebie form Me rozpuszczalnych w DTPA, mg/kg

a - oznaczone stężenie Me w ekstrakcie, mg/dm<sup>3</sup> (mg/l, ppm)

2 lub 10 - stosunek gleby do roztworu (przeliczenie na 1 kg gleby)

**Sprzęt:** waga laboratoryjna, mieszadło rotacyjne, spektrofotometr

**Szkló i akcesoria:** butelki plastikowe o pojemności co najmniej 50 cm<sup>3</sup> z korkami lub szczelnymi zakrętkami (do wytrząsania), butelki lub kolby stożkowe 50-100 cm<sup>3</sup> (do sączenia), lejki, sączki twarde 110 lub 125 mm.

**Odczynniki:** Roztwór DTPA: 0,005 M DTPA + 0,01 M CaCl<sub>2</sub> + 0,1 M trietanolaminy o pH 7,30. Naważyć do zlewki objętości 1000 cm<sup>3</sup> 14,92 g trietanolaminy (TEA), 1,967 g DTPA i 1,11 g bezwodnego CaCl<sub>2</sub> (albo 1,47 g CaCl<sub>2</sub> · 2 H<sub>2</sub>O). Rozpuścić w około 100 cm<sup>3</sup> wody destylowanej. Dodać wody destylowanej do ok. 900 cm<sup>3</sup>, doprowadzić pH do wartości 7,3 ± 0,05 przy pomocy HCl (1:1), mieszając stale roztwór na mieszadle magnetycznym (pod wyciągiem). Przebrać do kolby miarowej 1000 cm<sup>3</sup> i uzupełnić do kreski.

### Ocena zasobności gleby w przyswajalne Cu, Zn, Mn i Fe - na podstawie testu DTPA

Pierwiastek	Zawartości form metali rozpuszczalnych w DTPA, mg/kg	
	deficytowe (niewystarczające)	odpowiednie (wystarczające)
Cu	<0,2	>0,2
Zn	<0,5	>1,0
Mn	<1,0	>1,0
Fe	<2,5	>4,5

## 16.2. POTENCJALNIE ROZPUSZCZALNE FORMY PIERWIASTKÓW ŚLADOWYCH

### EKSTRAKCJA W ROZCIEŃCZONYM KWASIE AZOTOWYM (WG NORMY ISO)

Ekstrakcja rozcieńczonym kwasem azotowym, w warunkach pH około 0,5 stanowi alternatywę dla testu DTPA. Służy oznaczeniu zawartości w glebie potencjalnie bioprzyswajalnych form pierwiastków śladowych. Metoda uzyskała status normy ISO (17586:2016). Została zaproponowana przez Westerhoffa w 1954 r. dla oceny zasobności gleb w przyswajalne dla roślin formy Cu.

Metoda polega na ocenie zawartości w glebie form pierwiastków śladowych ekstrahowanych rozcieńczonym kwasem azotowym o stężeniu 0,43 M, co pozwala na uzyskanie pH ok. 0,5-1,0, zgodnie z zaleceniami normy ISO 17402: 2008 dotyczącej określania bioprzyswajalności zanieczyszczeń. Metodę można stosować do wszystkich rodzajów gleb.

#### Wykonanie analizy

1. Naważyć 2,50 g suchej gleby do plastikowych butelek o pojemności 50 cm<sup>3</sup>.
2. Dodać 25 cm<sup>3</sup> roztworu 0,43 M HNO<sub>3</sub>
3. Mieszać zawartość przez 2 godz. na mieszadle rotacyjnym, w temp. pokojowej
4. (Zalecane: odwirować w celu oddzielenia ekstraktu)
5. Przesączyć supernatant (lub zawiesinę) przez twardy sącdek do plastikowych butelek plastikowych lub kolb stożkowych 50-100 cm<sup>3</sup>, odrzucając pierwsze krople przesącza,
6. (Zalecane: dodatkowo supernatant przesączyć przez membranę 0,2 μm lub 0,45 μm)
7. Zawartości metali w ekstraktach oznacza się metodą AAS, ICP, MP-AES lub inną równoważną.

Uwaga: w przypadku gleb węglanowych lub zawierających znaczne ilości węglanów należy zastosować zwiększone ilości kwasu, tak aby końcowe pH ekstraktu mieściło się w przedziale 0,5-1,0. Uzyskuje się to (przy naważce gleby 2,50 g) - dodając 0,1 cm<sup>3</sup> 5M HNO<sub>3</sub> na każdy 1% CaCO<sub>3</sub>. Zastosowanie bardziej stężonego (5M) kwasu jest tu wskazane, aby nie spowodować radykalnej zmiany stosunku m:v, który wynosi w tej analizie 1:10

Przeliczenie wyników na mg/kg gleby

$$Me_{HNO_3} = 10 \cdot a \text{ (mg/kg gleby)}$$

gdzie:  $Me_{HNO_3}$  - zawartość w glebie form Me potencjalnie rozpuszczalnych (podatnych na ekstrakcję rozcieńczonym kwasem azotowym), mg/kg

a - oznaczone stężenie Me w ekstrakcie, mg/dm<sup>3</sup>

10 - stosunek gleby do roztworu (przeliczenie na 1 kg gleby)

**Sprzęt:** waga laboratoryjna, mieszadło rotacyjne, spektrofotometr

**Szkló i akcesoria:** butelki plastikowe o pojemności co najmniej 50 cm<sup>3</sup> z korkami lub szczelnymi zakrętkami (do wytrząsania), butelki lub kolby stożkowe 50-100 cm<sup>3</sup> (do sączenia), lejki, sączki twarde 110 lub 125 mm.

**Odczynniki:** 0,43 M HNO<sub>3</sub>: Rozpuścić 30 ml stężonego HNO<sub>3</sub> (65%, cz.d.a.) w 1000 cm<sup>3</sup> wody destylowanej. (Na pierwszym etapie wlać kwas do ok. 900 ml wody - w kolbie miarowej 1000 cm<sup>3</sup>, a następnie uzupełnić do kreski).

### 16.3. PIERWIASTKI ŚLADOWE ROZPUSZCZALNE W 1M HCl (FORMY „PRYSWAJALNE” wg PROCEDURY IUNG)

Metoda polega na ekstrakcji metali z gleby roztworem 1 M HCl, przy stosunku gleby do roztworu 1:10. Po przesączeniu ekstraktu metale oznacza się w nim metodą absorpcyjnej spektrofotometrii atomowej (AAS) i przelicza na mg/kg gleby. Oceny zasobności gleby w metale pełniące funkcję mikroelementów (Cu, Zn, Mn i Fe) dokonuje się w oparciu o liczby graniczne, zależne od kategorii ciężkości gleby.

#### Wykonanie analizy

1. Naważyć 5,00 g suchej gleby do plastikowych butelek o pojemności co najmniej 60 cm<sup>3</sup>
2. Dodać 50 cm<sup>3</sup> roztworu 1 M HCl
3. Mieszać zawartość przez 1 godz. na mieszadło rotacyjnym z szybkością ok. 40 obr/min.,
4. Przesączyć zawartość do plastikowych butelek lub kolb stożkowych 100 cm<sup>3</sup>, odrzucając pierwsze krople przesączu,
5. Zawartości metali w ekstraktach oznacza się metodą AAS, ICP, MP-AES lub inną równoważną.

Przeliczenie wyników na mg/kg gleby

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

gdzie:  $Me_{HCl}$  - zawartość w glebie form Me rozpuszczalnych w 1M HCl, mg/kg

a - oznaczone stężenie Me w ekstrakcie, mg/dm<sup>3</sup> (mg/l, ppm)

10 - stosunek gleby do roztworu (przeliczenie na 1 kg gleby)

**Sprzęt:** waga laboratoryjna, mieszadło rotacyjne, spektrofotometr.

**Szkló i akcesoria:** butelki plastikowe o pojemności co najmniej 60 cm<sup>3</sup> z korkami lub szczelnymi zakrętkami (do wytrząsania), butelki lub kolby stożkowe 100 cm<sup>3</sup> (do sączenia), lejki, sączki twarde 110 lub 125 mm.

**Odczynniki:** 1 M kwas solny HCl – odmierzyć cylicndrem miarowym (o pojemności 100 cm<sup>3</sup>) objętość 82,5 cm<sup>3</sup> stężonego HCl (d = 1,19 g/cm<sup>3</sup>) i rozcieńczyć H<sub>2</sub>O do 1000 cm<sup>3</sup>. Wszystkie czynności wykonywać pod wyciągiem.

#### 16.4. PIERWIASTKI ŚLADOWE ROZPUSZCZALNE W 0,11 M KWASIE OCTOWYM

Test jest pierwszym etapem sekwencyjnej ekstrakcji BCR, zaproponowanej przez European Community Bureau of Reference. Metoda umożliwia ekstrakcję frakcji łatwo rozpuszczalnych w środowisku kwaśnym łącznie z frakcją wymienną i węglanową.

Proste kwasy organiczne mają wpływ na mobilność metali ciężkich przede wszystkim poprzez obniżanie pH i możliwość tworzenia kompleksów z jonami metali. Zastosowanie 0,11M kwasu octowego jako ekstrahenta umożliwia imitację naturalnych warunków występujących w ryzosferze i w warstwie ściółki.

##### Wykonanie analizy

1. Naważyć 2,50 g suchej gleby do plastikowych butelek o pojemności co najmniej 60 cm<sup>3</sup>
2. Dodać 50 cm<sup>3</sup> roztworu 0,11 M kwasu octowego.
3. Mieszać zawartość przez 16 godzin na mieszadle rotacyjnym z szybkością ok. 40 obr/min. (odpowiednio zaplanować czas: rozpoczęcie wytrząsania o godz. 16:00 oznacza konieczność sączenia o godz. 8:00 dnia następnego).
4. Przesączyć zawartość do plastikowych butelek lub kolb stożkowych o pojemności 50-100 cm<sup>3</sup>, odrzucając pierwsze krople przesączu,
5. Zawartości metali w ekstraktach oznacza się metodą AAS, ICP, MP-AES lub inną równoważną.

Uwaga: ekstrakty są nietrwałe, można je przechowywać w lodówce w szczelnie zamkniętych naczyniach maksymalnie 3 dni!

Przeliczenie wyników na mg/kg gleby

$$Me_{\text{oct}} = 20 \cdot a \text{ (mg/kg gleby)}$$

gdzie:  $Me_{\text{oct}}$  - zawartość form Me rozpuszczalnych w 0,11M kwasie octowym, mg/kg

a - oznaczone stężenie Me w ekstrakcie, mg/dm<sup>3</sup> (mg/l, ppm)

20 - stosunek gleby do roztworu (przeliczenie na 1 kg gleby)

**Sprzęt:** waga laboratoryjna, mieszadło rotacyjne, spektrofotometr.

**Szkló i akcesoria:** butelki plastikowe o pojemności co najmniej 60 cm<sup>3</sup> z korkami lub szczelnymi zakrętkami (do wytrząsania), butelki lub kolby stożkowe 50-100 cm<sup>3</sup> (do sączenia), lejki, sączki twarde 110 lub 125 mm.

**Odczynniki:** 0,11 M kwas octowy (CH<sub>3</sub>COOH) – odmierzyć pipetą objętość 6,25 cm<sup>3</sup> 80% kwasu octowego w kolbie miarowej 1000 cm<sup>3</sup> i dopełnić do kreski wodą destylowaną.

## 16.5. POTENCJALNIE ROZPUSZCZALNE FORMY PIERWIASTKÓW ŚLADOWYCH EKSTRAKCJA W KWASIE WERSENOWYM (EDTA)

Metoda polega na ocenie zawartości w glebie form metali ciężkich ekstrahowanych roztworem 0,02 M EDTA (kwasu wersenowego) w buforze octanowym o pH 4,65.

### Wykonanie analizy

1. Naważyć 10,0 g suchej gleby do plastikowych butelek o pojemności co najmniej 60 cm<sup>3</sup>
2. Dodać 50 cm<sup>3</sup> roztworu 0,02 M EDTA w buforze octanowym o pH 4,65.
3. Wytrząsać zawiesinę przez 30 minut na mieszadło obrotowym z szybkością ok. 40 obr/min..
4. Przesączyć zawiesinę przez twardy sączek do plastikowych butelek lub kolb stożkowych 100 cm<sup>3</sup>, odrzucając pierwsze krople przesączu.
5. Zawartości metali w ekstraktach oznacza się metodą AAS, ICP, MP-AES lub inną równoważną.

Przeliczenie wyników na mg/kg gleby

$$Me_{EDTA} = 5 \cdot a \text{ (mg/kg gleby)}$$

gdzie:  $Me_{EDTA}$  - zawartość w glebie form Me rozpuszczalnych w EDTA, mg/kg

a - oznaczone stężenie Me w ekstrakcie, mg/dm<sup>3</sup> (mg/l, ppm)

10 - stosunek gleby do roztworu (przeliczenie na 1 kg gleby)

**Sprzęt:** waga laboratoryjna, mieszadło rotacyjne, spektrofotometr

**Szkló i akcesoria:** butelki plastikowe o pojemności co najmniej 60 cm<sup>3</sup> z korkami lub szczelnymi zakrętkami (do wytrząsania), butelki lub kolby stożkowe 100 cm<sup>3</sup> (do sączenia), lejki, sączki twarde 110 lub 125 mm.

### Odczynniki:

- 0,02 M kwas wersenowy EDTA w buforze octanowym o pH 4,65 (jest to roztwór o składzie 0,5 M CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub> + 0,5 M CH<sub>3</sub>COOH + 0,02 M EDTA) - w zlewce 1000 cm<sup>3</sup> rozpuścić 38,5 g octanu amonowego CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub> w niewielkiej ilości wody destylowanej (ok. 200-300 cm<sup>3</sup>), dodać 25 cm<sup>3</sup> kwasu octowego CH<sub>3</sub>COOH i 5,845 g EDTA. Uzupełnić wodą destylowaną do objętości ok. 900 cm<sup>3</sup>. Sprawdzić pH i skorygować do wartości 4,65 ± 0,03 dodając małymi porcjami kwas octowy CH<sub>3</sub>COOH lub zasadę amonową NH<sub>4</sub>OH (roztwór amoniaku w wodzie). Przenieść do kolby miarowej i uzupełnić wodą destylowaną do kreski. Wszystkie czynności wykonywać pod wyciągiem!



## 16.6. PIERWIASTKI ŚLADOWE ROZPUSZCZALNE W 1 M AZOTANIE AMONOWYM

Ekstrakcja 1 M  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  pozwala na ocenę aktualnej fitoprzyswajalności metali, m.in. w glebach zanieczyszczonych. Przyjmuje się, że roztwór ten ekstrahuje z gleby łatwo rozpuszczalne oraz wymienne (niespecyficzenie sorbowane) formy metali, tj. pulę aktualnie przyswajalną dla roślin.

Ta ekstrakcja uzyskała status normy ISO (ISO 19730: 2008)

*(Uwaga: Należy brać pod uwagę fakt, że w przypadku gleb o alkalicznym odczynie jony amonowe z odczynnika powodują ekstrakcję zawyżonych ilości Cu oraz Ni, w wyniku tworzenia się kompleksowych połączeń amina-miedziowych i amina-niklowych)*

### Wykonanie analizy

1. Naważyć 10,00 g suchej gleby do plastikowych butelek o pojemności ok. 50 cm<sup>3</sup>.
2. Dodać 25 cm<sup>3</sup> roztworu 1 M  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ .
3. Mieszać zawartość przez 2 godz. na mieszadle rotacyjnym z szybkością ok. 20 obr/min., w temp. ok. 20°C
4. Zalecane: odwirować w celu oddzielenia ekstraktu (10 minut, 1000 G)
5. Przesączyć supernatant (lub zawiesinę) przez twardy sączek do plastikowych butelek plastikowych lub kolb stożkowych 100 cm<sup>3</sup>, odrzucając pierwsze krople przesączu
6. W celu utrwalenia ekstraktu można dodać do 0,5 cm<sup>3</sup> stężonego  $\text{HNO}_3$  (65%) cz.d.a. Utrwalone próbki można przechowywać przez kilka dni.
7. (Zalecane: dodatkowo supernatant przesączyć przez membranę 0,2  $\mu\text{m}$  lub 0,45  $\mu\text{m}$ )
8. Zawartości metali w ekstraktach oznacza się metodą AAS, ICP, MP-AES lub inną równoważną.

Przeliczenie wyników na mg/kg gleby

$$\text{Me}_{\text{NH}_4\text{NO}_3} = 2,5 \cdot a \text{ (mg/kg gleby)}$$

gdzie:  $\text{Me}_{\text{NH}_4\text{NO}_3}$  - zawartość w glebie form Me rozpuszczalnych w 1 M  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , mg/kg

a - oznaczone stężenie Me w ekstrakcie, mg/dm<sup>3</sup> (mg/l, ppm)

25 - stosunek gleby do roztworu (przeliczenie na 1 kg gleby)

**Sprzęt:** waga laboratoryjna, mieszadło rotacyjne, spektrofotometr

**Szkló i akcesoria:** butelki plastikowe o pojemności co najmniej 50 cm<sup>3</sup> z korkami lub szczelnymi zakrętkami (do wytrząsania), butelki lub kolby stożkowe 50-100 cm<sup>3</sup> (do sączenia), lejki, sączki twarde 110 lub 125 mm, pipeta (do zakwaszenia/utrwalenia przesączu).

### Odczynniki:

- 1M azotan amonu  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  - rozpuścić 80,04 g krystalicznego  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  w  $\text{H}_2\text{O}$  i dopełnić (w kolbie miarowej) do 1000 cm<sup>3</sup>.
- Stężony kwas azotowy  $\text{HNO}_3$  (65%) cz.d.a, do utrwalenia próbek

## 16.7. PIERWIASTKI ŚLADOWE ROZPUSZCZALNE W 0,01 M CaCl<sub>2</sub>

Roztwór 0,01 M CaCl<sub>2</sub> uważany jest za przydatny odczynnik ekstrakcyjny dla oceny rzeczywistej rozpuszczalności metali i ich uwalniania z fazy stałej gleby do roztworu glebowego. Był rozpatrywany przez BCR jako uniwersalny odczynnik ekstrakcyjny do oznaczania zasobności gleb w przyswajalne formy makroelementów (z wyjątkiem P) i mikroelementów, jednak ostatecznie nie została opracowana norma ISO dla tej ekstrakcji. Roztwór 0,01 M CaCl<sub>2</sub> jest jednak wymieniony jako jeden z odczynników zalecanych do określania bioprzyswajalności zanieczyszczeń, zgodnie z ISO 17402: 2008.

Ekstrakcja 0,01 M CaCl<sub>2</sub> pozwala na ocenę aktualnej bioprzyswajalności metali ciężkich, szczególnie w glebach w znacznym stopniu zanieczyszczonych.

### Wykonanie analizy

1. Naważyć 2,50 g suchej gleby do plastikowych butelek o pojemności około 50 cm<sup>3</sup>
2. Dodać 25 cm<sup>3</sup> roztworu 0,01 M CaCl<sub>2</sub>
3. Mieszać zawartość przez 2 godz. na mieszadle rotacyjnym z szybkością ok. 40 obr/min., w temp. ok. 20°C
4. (Zalecane: odwirować w celu oddzielenia ekstraktu (10 minut, 3000 G))
5. Przesączyć supernatant (lub zawiesinę) przez twardy sączek do plastikowych butelek plastikowych lub kolb stożkowych 50-100 cm<sup>3</sup>, odrzucając pierwsze krople przesączu
6. (W celu utrwalenia ekstraktu można dodać do 0,5 cm<sup>3</sup> stężonego HNO<sub>3</sub> (65%) cz.d.a. Utrwalone próbki można przechowywać przez kilka dni.)
7. (Zalecane: dodatkowo supernatant przesączyć przez membranę 0,2 μm lub 0,45 μm)
8. Zawartości metali w ekstraktach oznacza się metodą AAS, ICP, MP-AES lub inną równoważną.

Przeliczenie wyników na mg/kg gleby

$$Me_{CaCl_2} = 10 \cdot a \text{ (mg/kg gleby)}$$

gdzie:  $Me_{CaCl_2}$  - zawartość w glebie form Me rozpuszczalnych w CaCl<sub>2</sub>, mg/kg

a - oznaczone stężenie Me w ekstrakcie, mg/dm<sup>3</sup> (mg/l, ppm)

10 - stosunek gleby do roztworu (przeliczenie na 1 kg gleby)

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

**Szkło i akcesoria:** butelki plastikowe o pojemności co najmniej 50 cm<sup>3</sup> z korkami lub szczelnymi zakrętkami (do wytrząsania), butelki lub kolby stożkowe 50-100 cm<sup>3</sup> (do sączenia), lejki, sączki twarde 110 lub 125 mm.

### Odczynniki:

- 0,01 M chlorek wapnia CaCl<sub>2</sub> - 1,11 g bezwodnego CaCl<sub>2</sub> (lub 1,47 g CaCl<sub>2</sub>·2 H<sub>2</sub>O lub 2,19 g CaCl<sub>2</sub>·6 H<sub>2</sub>O) rozpuścić w H<sub>2</sub>O i dopełnić (w kolbie miarowej) do 1000 cm<sup>3</sup>
- (Stężony kwas azotowy HNO<sub>3</sub> (65%) cz.d.a, do utrwalenia próbek)

## 16.8. PIERWIASTKI ŚLADOWE ROZPUSZCZALNE W 1 M AZOTANIE AMONOWYM

Zwykle zawartość w glebie pierwiastków śladowych rozpuszczalnych w wodzie jest niewielka. Dopuszcza się (alternatywnie) dwie procedury ekstrakcji: z zastosowaniem stosunku m:v albo 1:2 (w oparciu o założenia ISO 21268-2007 – cz.1), albo 1:10 (ISO 21268-2007 – cz.2).

Dla gleb zwięźlejszych lub bogatych w substancję organiczną zalecany jest stosunek 1:10. Należy jednak zwrócić uwagę, że uzyskiwane stężenia pierwiastków śladowych w ekstrakcie są przy stosunku 1:10 znacznie niższe niż przy stosunku 1:2, dlatego w przypadku gleb o niewielkich zawartościach pierwiastków śladowych należy rozważyć ekstrakcję przy m:v 1:2.

### Wykonanie analizy (opcja 1:10)

1. Naważyć 2,5 g suchej gleby do plastikowych butelek o pojemności ok. 50 cm<sup>3</sup>
2. Dodać 25 cm<sup>3</sup> wody podwójnie destylowanej / demineralizowanej
3. Mieszać zawartość przez 2 godz. na mieszadle rotacyjnym z szybkością ok. 40 obr/min., w temp. ok. 20°C
4. (Zalecane: odwirować w celu oddzielenia ekstraktu (10 minut, 3000 G))
5. Przesączyć supernatant (lub zawiesinę) przez twardy sączek do plastikowych butelek plastikowych lub kolb stożkowych 50-100 cm<sup>3</sup>, odrzucając pierwsze krople przesącza,
6. (Zalecane: dodatkowo supernatant przesączyć przez membranę 0,2 µm lub 0,45 µm)
7. Zawartości metali w ekstraktach oznacza się metodą AAS, ICP, MP-AES lub inną równoważną.

Przeliczenie wyników na mg/kg gleby

$$Me_{H_2O} = 10 \cdot a \text{ (mg/kg gleby)}$$

gdzie:  $Me_{H_2O}$  - zawartość w glebie form Me rozpuszczalnych w wodzie, mg/kg

a - oznaczone stężenie Me w ekstrakcie, mg/dm<sup>3</sup>

10 - stosunek gleby do roztworu (przeliczenie na 1 kg gleby)

**Sprzęt:** waga laboratoryjna, mieszadło rotacyjne, spektrofotometr

**Szkló i akcesoria:** butelki plastikowe o pojemności co najmniej 50 cm<sup>3</sup> z korkami lub szczelnymi zakrętkami (do wytrząsania), butelki lub kolby stożkowe 50-100 cm<sup>3</sup> (do sączenia), lejki, sączki twarde 110 lub 125 mm, pipeta (do zakwaszenia/utrwalenia przesącza).

### Odczynniki:

Woda podwójnie destylowana / demineralizowana

Wymogi normy ISO: zaleca się aby woda destylowana spełniała normy ISO3696, stopień 2: przewodnictwo elektryczne poniżej 0,1 mS/m, co odpowiada rezystancji powyżej 0,01 MΩ m

## 17. ŻELAZO „WOLNE” (NIEKRZEMIANOWE)

### METODA CYTRYNIANOWO – WĘGLANOWO - DWUTIONINOWĄ (CBD) PROCEDURA ORYGINALNA, WG MEHRY I JACKSONA

#### Wykonanie oznaczenia

1. 2,50 g gleby zawierającej mniej niż 0,5 g  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ , roztartej tak, by przechodziła przez sito 0,1 mm, odważyć do szklanych słoiczek typu simax. Wielkość próbki powinna być dobrana odpowiednio do spodziewanej ilości Fe.
2. Dodać 20  $\text{cm}^3$  0,3 M cytrynianu sodu i 2,5  $\text{cm}^3$  1 M kwaśnego węglanu sodu, zakręcić słoiczki.
3. Równolegle przygotować 2 próby kontrolne (bez gleby), dodając do słoiczek te same odczynniki i poddając takiej samej obróbce jak słoiczki z glebą.
4. Słoiczki z zawiesiną umieścić w basenowej łaźni wodnej i podgrzać do temperatury 75-80°C wstrząsając od czasu do czasu zawiesinę w słoiczkach. Nie wolno przekroczyć temperatury 80°C, gdyż powyżej 80°C ditionit może ulegać rozkładowi. Nie należy nalewać zbyt dużo wody do łaźni, gdyż grozi to wywracaniem się słoiczek z próbkami.
5. Gdy temperatura zawiesiny glebowej osiągnie 75-80°C, dodać łyżeczką miarową ok. 0,5 g krystalicznego  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ , niezwłocznie wymieszać, i następnie jeszcze wstrząsać od czasu do czasu przez 5 min.
6. Dodać drugą – 0,5 g porcję  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$  i kontynuować wstrząsanie od czasu do czasu przez kolejne 10 min.
7. Po ekstrakcji dodać 5  $\text{cm}^3$  NaCl dla wywołania flokulacji i przesączyć do zważonej uprzednio butelki plastikowej o pojemności 70-100  $\text{cm}^3$  (z szeroką szyjką). Jeżeli zawiesina nie flokuluje z dodatkiem NaCl, dodać 5  $\text{cm}^3$  acetonu ( $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$ ), wymieszać i ogrzać w łaźni wodnej. Alternatywna procedura flokulacji obejmuje dodanie 2-4 kropli roztworu Superfloc, wymieszanie i przesączenie.
8. Ustawić butelkę z przesączem na wadze i dopełnić wodą destylowaną do wagi 50 g ekstraktu (uwzględnić wagę butelki plastikowej).
9. Przesącz należy 5x rozcieńczyć wodą destylowaną (np. w probówkach: 4 ml przesączu + 16 ml wody).
10. Oznaczenie zawartości żelaza (i ew. glinu, manganu i krzemu) w wyciągu wykonuje się metodą ICP, MP-AES lub równoważną.

**Sprzęt:** waga analityczna, łaźnia wodna basenowa, spektrofotometr.

**Szkło:** słoiczek typu simax (grubościenny, z niebieską zakrętką), cylinderki miarowe 50  $\text{cm}^3$  (lub dozownik), kolba szklana lub butelka plastikowa 100  $\text{cm}^3$  z szeroką szyjką (do sączenia), pipeta 5  $\text{cm}^3$ , probówki szklane lub plastikowe 25  $\text{cm}^3$  (do rozcieńczeń), lejki szklane lub plastikowe, sączki twarde 110 lub 125 mm, łyżeczka miarowa (0,5 grama)

#### Odczynniki

- 0,3 M cytrynian sodu: 88,2g krystalicznego  $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  rozpuścić w 200  $\text{cm}^3$  wody destylowanej w 1 l kolbie miarowej i dopełnić do kreski.
- 1 M kwaśny węglan sodu: 84g  $\text{NaHCO}_3$  rozpuścić w 200  $\text{cm}^3$  wody destylowanej w 1 l kolbie miarowej i dopełnić do kreski.
- dwutionin sodu (ditionit sodu,  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ ) – krystaliczny.
- chlorek sodu (NaCl), roztwór nasycony lub Superfloc, poliakrylamidowy czynnik flokulujący

### Przeliczenie wyników na mg/kg gleby

$$Fe_d = 50 \cdot a \text{ (mg/kg gleby)}$$

gdzie:  $Fe_d$  - zawartość żelaza wolnego – niekrzemianowego (manganu/glinu/krzemu), mg/kg

$a$  - oznaczone stężenie Fe w ekstrakcie,  $mg/dm^3$  (mg/l, ppm)

50 - stosunek gleby do roztworu (przeliczenie na 1 kg gleby)

**dotatkowo należy uwzględnić rozcieńczenie przesączu!**

*Jeśli wyniki mają być podane w formie tlenkowej, należy zastosować następujące przeliczniki:*

$$\% Fe_2O_3 = 1,43 x \% Fe$$

$$\% Al_2O_3 = 1,89 x \% Al.$$

$$\% MnO_2 = 1,58 x \% Mn$$

$$\% SiO_2 = 2,14 x \% Si$$

## 18. ŻELAZO „WOLNE” (NIEKRZEMIANOWE)

### METODA UPROSZCZONA WG HOLMGRENA

#### Wykonanie oznaczenia

1. 1,00 g drobno roztartej gleby odważyć do butelki plastikowej o pojemności 100 cm<sup>3</sup>.
2. Dodać 50 cm<sup>3</sup> buforu cytrynianowo-dwutioninowego.
3. Wytrząsać mieszaninę przez 16 godz. na mieszadło obrotowym z szybkością ok. 40 obr/min.
4. W celu przyspieszenia flokulacji można dodać 2–4 krople roztworu Superfloc i silnie wstrząsnąć zawiesinę.
5. Ekstrakt przesączyć na sączku twardym do butelek plastikowych lub kolb szklanych o pojemności 100 cm<sup>3</sup> (szerokie szyjki).
6. Przesącz należy 5x rozcieńczyć wodą destylowaną (np. w probówkach: 4 ml przesączu + 16 ml wody).
7. Oznaczenie zawartości żelaza (i ewentualnie glinu i manganu) w wyciągu wykonuje się metodą ICP, MP-AES, ICP lub równoważną. Jeśli okaże się to konieczne, przesącz należy dodatkowo rozcieńczyć.

**Sprzęt:** waga analityczna, mieszadło rotacyjne, spektrofotometr.

**Szkło:** butelki plastikowe 100 cm<sup>3</sup> (do wytrząsania), kolby szklane lub butelki plastikowe 50-100 cm<sup>3</sup> (do sączenia), cylinder miarowy 50-100 cm<sup>3</sup> (lub dozownik), pipeta 5 cm<sup>3</sup>, probówki szklane lub plastikowe 25 cm<sup>3</sup> (do rozcieńczeń), lejki szklane lub plastikowe, sączki twarde 110 lub 125 mm.

#### Odczynniki

- Bufor cytrynianowo-dwutioninowy (17% cytrynian sodu + 1,7% dwutionin sodu): 103,3 g krystalicznego cytrynianu sodu Na<sub>3</sub>C<sub>6</sub> H<sub>5</sub>O<sub>7</sub>\*2H<sub>2</sub>O rozpuścić w ok. 500 cm<sup>3</sup> wody destylowanej w 1 l kolbie miarowej, dodać 16,7 g krystalicznego dwutioninu sodu (ditionit sodu, Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>4</sub>) i dopełnić do kreski.
- Superfloc, poliakrylamidowy czynnik flokulujący

#### Przeliczenie wyników na mg/kg gleby

$$Fe_d = 50 \cdot a \text{ (mg/kg gleby)}$$

gdzie: Fe<sub>d</sub> - zawartość żelaza wolnego – niekrzemianowego (Mn, Al, Si), mg/kg

a - oznaczone stężenie Fe w ekstrakcie, mg/dm<sup>3</sup> (mg/l, ppm)

50 - stosunek gleby do roztworu (przeliczenie na 1 kg gleby)

**dotatkowo należy uwzględnić rozcieńczenie przesączu!**

## 19. ŻELAZO „AKTYWNE” (AMORFICZNE, NIEKRYSZTALICZNE)

### METODA SZCZAWIANOWA (W CIEMNOŚCI) WG TAMMA I SCHWERTMANN

#### Wykonanie oznaczenia

1. Do butelki plastikowej o pojemności 100 cm<sup>3</sup> odważyć 1,00 g gleby roztartej tak, by przechodziła przez sito o średnicy oczek 0,1 mm.
2. Dodać 50 cm<sup>3</sup> roztworu szczawianu amonowego o pH 3,0.
3. Zakręcone butelki jak najszybciej umieścić na mieszadle i rozpocząć wytrząsanie próbek **W CIEMNOŚCI**. Wytrząsanie powinno trwać dokładnie 2 godziny.
4. Po zakończeniu wytrząsania jak najszybciej rozpocząć sączenie ekstraktu do butelek plastikowych lub kolb szklanych o pojemności 50-100 cm<sup>3</sup> (szerokie szyjki).
5. Przesącz należy 5x rozcieńczyć wodą destylowaną (np. w probówkach: 4 ml przesączu + 16 ml wody).
6. Oznaczenie zawartości żelaza (i ewentualnie glinu) w wyciągu wykonuje się metodą ICP, MP-AES, ICP lub równoważną. Jeśli okaże się to konieczne, przesącz należy dodatkowo rozcieńczyć.

**Sprzęt:** waga analityczna, wytrząsarka.

**Szkło:** butelki plastikowe 100 cm<sup>3</sup> (do wytrząsania), kolby szklane lub butelki plastikowe 50-100 cm<sup>3</sup> (do sączenia), cylinderek miarowy 50-100 cm<sup>3</sup> (lub dozownik), pipeta 5 cm<sup>3</sup>, probówki szklane lub plastikowe 25 cm<sup>3</sup> (do rozcieńczeń), lejki szklane lub plastikowe, sączki twarde 110 lub 125 mm.

#### Odczynniki

- Kwaśny szczawian amonowy o pH 3,0 (mieszanina 0,175 M szczawianu amonowego + 0,1 M kwasu szczawowego): 24,87 g (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>C<sub>2</sub>O<sub>4</sub>\* H<sub>2</sub>O i 12,61 g H<sub>2</sub>C<sub>2</sub>O<sub>4</sub>\* 2H<sub>2</sub>O rozpuścić w 800 cm<sup>3</sup> wody destylowanej. Za pomocą pehametru ustalić pH roztworu na wartości 3,0 dodają kroplami amoniak lub kwas solny, przelać do 1 l kolby miarowej i dopełnić do kreski.

#### Przeliczenie wyników na mg/kg gleby

$$Fe_{ox} = 50 \cdot a \text{ (mg/kg gleby)}$$

gdzie: Fe<sub>ox</sub> - zawartość żelaza amorficznego (Mn, Al, Si), mg/kg

a - oznaczone stężenie Fe w ekstrakcie, mg/dm<sup>3</sup> (mg/l, ppm)

50 - stosunek gleby do roztworu (przeliczenie na 1 kg gleby)

**dotatkowo należy uwzględnić rozcieńczenie przesączu!**

## 20. ŻELAZO SKOMPLEKSOWANE PRZEZ SUBSTANCJĘ ORGANICZNĄ METODA PIROFOSFORANOWA

### Wykonanie oznaczenia

1. Odważyć 0,250 g gleby do plastikowych butelek o poj. 100 cm<sup>3</sup> lub probówek wirówkowych o poj. 50 cm<sup>3</sup>.
2. Dodać 25 cm<sup>3</sup> 0,1 M pirofosforanu sodu o pH 10.
3. Wytrząsać próbkę na mieszadło elektrycznym przez 16 godzin.
4. Odwirować ekstrakt w czasie 15 minut przy 4000 obr/min.
5. Przesączyć supernatant przez twardy sączek o jak najmniejszej średnicy (maksymalnie 100 mm) do kolb lub butelek plastikowych o poj. 50-100 cm<sup>3</sup>.
6. Przesącz należy 5x rozcieńczyć wodą destylowaną (np. w probówkach: 4 ml przesączu + 16 ml wody).
7. Oznaczenie zawartości żelaza (i ewentualnie glinu) w wyciągu wykonuje się metodą ICP, MP-AES, AAS lub inna równoważną.

**Sprzęt:** waga analityczna, wytrząsarka, wirówka.

**Szkło:** butelki plastikowe 100 cm<sup>3</sup> do wytrząsania, kolby szklane lub butelki plastikowe 50-100 cm<sup>3</sup> (do sączenia), cylinderek miarowy 25-50 cm<sup>3</sup> (lub dozownik), lejki szklane lub plastikowe, probówki szklane lub plastikowe 25 cm<sup>3</sup> (do rozcieńczeń), sączki twarde o średnicy maksymalnie 100 mm.

### Odczynniki

- 0,1 M pirofosforan sodu, pH 10: 44,61 g Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>\* 10 H<sub>2</sub>O rozpuścić w 800 cm<sup>3</sup> wody destylowanej. Za pomocą pehametru ustalić pH roztworu na wartości 10,0 dodając kroplami NaOH, przelać do 1 l kolby miarowej i dopełnić do kreski. Przechowywać w szczelnie zakręconej butli w lodówce.

### Przeliczenie wyników na mg/kg gleby

$$Fe_p = 100 \cdot a \text{ (mg/kg gleby)}$$

gdzie: Fe<sub>p</sub> - zawartość żelaza skompleksowanego organicznie, mg/kg

a - oznaczone stężenie Fe w ekstrakcie, mg/dm<sup>3</sup> (mg/l, ppm)

100 - stosunek gleby do roztworu (przeliczenie na 1 kg gleby)

**dotatkowo należy uwzględnić rozcieńczenie przesączu!**