

POUŽITELNOST RŮZNÝCH EXTRAČNÍCH ČINIDEL PRO STANOVENÍ PODÍLU PŮDNÍHO ARSENU VYUŽITELNÉHO ROSTLINAMI

JIŘINA SZÁKOVÁ, PAVEL TLUSTOŠ, DANIELA PAVLÍKOVÁ a JIŘÍ BALÍK

Katedra agrochemie a výživy rostlin, Česká zemědělská univerzita Praha, 165 21 Praha 6-Suchbát

Došlo dne 5.II.1997

Obsah

1. Úvod
2. Materiál a metody
3. Výsledky a diskuse
4. Závěr

1. Úvod

Přijatelnost arсенu z půd rostlinami závisí na komplexu fyzikálně chemických vlastností půd. Při srovnatelných obsahích celkového arсенu v půdě je rostlinami méně přijatelný As z jílovitých půd s vysokým obsahem jílovitých materiálů a oxidů železa a hliníku ve srovnání s lehčími půdami. Je zde zřejmá souvislost se sorpčními charakteristikami půd. Byl rovněž prokázán vliv pH na přijatelnost As rostlinami, kdy se příjem As zvyšuje při pH nižším než 5 a naopak při extrémně vysokém pH (pH = 8). Rovněž přísávek fosfátů se na příjem arсенu rostlinami projevuje v závislosti na druhu půdy. Příznivě se projevuje u jílovitých půd, které obsahují dostatečný počet sorpčních míst na jílovitých minerálech. U písčitéch půd s malým počtem sorpčních míst naopak dochází ke kompetitivním vztahům, kdy sorbované arseničnany jsou nahrazovány fosforečnany, přecházejí do půdního roztoku a jsou rostlinám přístupnější¹.

Chaney² považuje hladinu anorganického As v rostlinách 0,01-1 mg.kg⁻¹ za normální a obsahy 3-10 mg.kg⁻¹ za fytotoxické. Ze zemědělských plodin jsou na účinky As nejcitlivější luštěniny. Fytotoxicita As se u rostlin projevuje plazmolýzou pletiv kořenů a žloutnutím listů vedoucím až k nekróze špiček a okrajů listů¹. Po přísádku 100 mg.kg⁻¹ arсенu v podobě kyseliny arseničné do půdy se obsah tohoto prvku v zelenině pohyboval v rozmezí od < 0,01 mg.kg⁻¹

v kukuřici a zelí do 3,0 mg.kg⁻¹ v bramborách³. Byl rovněž prokázán vliv zvýšené koncentrace As na snížení absorpce některých esenciálních mikroprvků jako B, Cu, Mn a Zn rostlinami⁴.

Pro sledování účinků As na organismy a pro posouzení úrovně kontaminace jednotlivých složek životního prostředí tímto prvkem je nezbytné zajistit spolehlivé, tj. přesné a správné analytické stanovení As v různých typech biologických materiálů. Pro zhodnocení přechodu As z půdy do rostlin má pak význam identifikace a kvantifikace těch forem, které jsou rostlinám přístupné. Z literatury je zřejmé, že pro posouzení přijatelnosti As z půdy rostlinami je naprosto nedostačující informace o celkovém obsahu tohoto prvku v půdě⁵. Navíc v komerční nabídce neexistuje certifikovaný referenční materiál pro extrahovatelné obsahy prvků (s výjimkou extrahovatelných obsahů lučavkou královskou a 2 mol.l⁻¹ HNO₃ z nabídky Analytika Co., Ltd. (Česká republika) a lučavkou královskou z nabídky Community Bureau of Reference (Belgie), takže pro ověření správnosti výsledků je zpravidla nutno použít nezávislé analytické metody. Velká rozmanitost používaných extraktantů s různou účinností i rozdíly v metodikách při použití téhož extrakčního činidla pak často znemožňují porovnání výsledků z různých pracovišť. Údaje v literatuře jsou především v případě půdy velmi omezené.

Na základě vlastních experimentálních zkušeností pracoviště získaných při sledování chování Cd v půdách a jeho příjmu rostlinami, analytických zkušeností se stanovením celkového obsahu As v biologických materiálech a současné úrovně poznání chování As v biosféře jsme se pokusili najít extrakční činidlo schopné uvolnit z půdy rostlinám přístupné formy As.

2. Materiál a metody

Byl vybrán soubor pěti půd rozdílných fyzikálně-chemických vlastností, ve kterých byly v nádobových vegetačních pokusech pěstovány ředkvičky odrůda Duo. K odváženému množství zeminy (5 kg) byly přidány základní živiny v dávkách 0,75 g N ve formě NH₄NO₃, 0,44 g P a 1,1 g K v K₂HPO₄ na nádobu. Nádobky byly zavlažovány deionizovanou vodou. Vlhkost zeminy byla udržována na 60 % maximální vodní kapacity po celou dobu trvání experimentu. Sklizená rostlinná biomasa byla zvážena, usušena při 60 °C a zhomogenizována. Kořenové části rostlin byly před usušením omyty deionizovanou vodou. Zemina byla

usušena na vzduchu, rozdrvena a přesáta přes síto o velikosti ok 2 mm. Pro posouzení extrahovatelnosti As byl soubor vzorků půd doplněn dalšími dvěma vzorky z lokality Přestanov a Suchdol, které nebyly zařazeny do nádobového experimentu. Obsah As ve vzorcích rostlinného materiálu, půd a půdních extraktů byl stanoven metodou atomové absorpční spektrometrie s technikou generace hydridů na přístroji VARIAN SpectrAA-40 s kontinuálním generátorem hydridů VGA-76. Vzorky rostlinného materiálu byly před stanovením rozloženy na suché cestě ve směsi oxidáčnických plynů v přístroji APION.

Použité extrakční postupy použité v případě půd jsou charakterizovány následovně:

7) extrakce 2 mol.l⁻¹ roztokem HNO₃

Vzorek půdy je extrahován 2 mol.l⁻¹ HNO₃ v poměru 1:10 (w/v) při teplotě místnosti následovně: 3,0 g vzorku půdy se naváží do polyethylenové lahvičky, zalije se 30 ml 2 mol.l⁻¹ HNO₃, uzavře a nechá stát po dobu 16 hodin. Po uplynutí této doby je vzorek mechanicky protřepáván po dobu 6 hodin, poté je zfiltrován přes jemný filtr a uložen při laboratorní teplotě až do doby měření⁶.

2) extrakce roztokem CH₃COOH

Vzorek půdy se extrahuje 0,43 mol.l⁻¹ roztokem CH₃COOH v poměru 1:40 (w/v) při teplotě místnosti následovně: 1,0 g vzorku půdy se naváží do 100 ml polyethylenové lahvičky a zalije se 40 ml 0,43 mol.l⁻¹ CH₃COOH. Reakční směs je mechanicky protřepávána po dobu 5 hodin, poté je roztok centrifugován po dobu 10 minut při 3000 otáčkách (Hettich Universal 30 RF). Supernatant je uložen v chladničce ve zkumavkách při teplotě 6 °C až do doby měření⁷.

3) extrakce roztokem DTPA

Vzorek půdy se extrahuje 0,005 mol.l⁻¹ roztokem DTPA v poměru 1:2 (w/v) následovně: 10 g vzorku půdy se naváží do 100 ml polyethylenové lahvičky a zalije 20 ml 0,005 mol.l⁻¹ roztoku DTPA (+ 0,1 mol.l⁻¹ trietanolamin + 0,01 mol.l⁻¹ CaCl₂). Reakční směs se mechanicky protřepává po dobu 2 hodin, poté se roztok zfiltruje a uloží při teplotě 6 °C až do doby měření⁸.

4) extrakce roztokem CaCl₂

Vzorek půdy se extrahuje 0,01 mol.l⁻¹ roztokem CaCl₂ v poměru 1:10 (w/v) při teplotě místnosti následovně: 3,0 g vzorku půdy se naváží do 100 ml polyethylenové lahvičky a zalije se 30 ml 0,01 mol.l⁻¹ CaCl₂. Reakční směs je mechanicky protřepávána po dobu 6 hodin, poté je roztok centrifugován po dobu 10 minut při 3000 otáčkách (Hettich Universal 30 RF). Supernatant je uložen ve zkumavkách při teplotě 6 °C až do doby měření⁹.

5) extrakce roztokem NH₄NO₃

Vzorek půdy se extrahuje 1 mol.l⁻¹ NH₄NO₃ v poměru 1:2,5 (w/v) při teplotě místnosti následovně: 10,0 g vzorku půdy se naváží do 100 ml polyethylenové lahvičky a zalije se 25 ml 1 mol.l⁻¹ NH₄NO₃. Reakční směs je mechanicky protřepávána po dobu 2 hodin, poté je roztok centrifugován po dobu 10 minut při 3000 otáčkách (Hettich Universal 30 RF). Supernatant je uložen ve zkumavkách při teplotě 6 °C až do doby měření¹⁰.

6) extrakce roztokem NaNO₃

Vzorek půdy se extrahuje 0,1 mol.l⁻¹ NaNO₃ v poměru 1:2,5 (w/v) při teplotě místnosti následovně: 10,0 g vzorku půdy se naváží do 100 ml polyethylenové lahvičky a zalije se 25 ml 0,1 mol.l⁻¹ NaNO₃. Reakční směs je mechanicky protřepávána po dobu 6 hodin, poté je roztok centrifugován po dobu 10 minut při 3000 otáčkách (Hettich Universal 30 RF). Supernatant je uložen ve zkumavkách při teplotě 6 °C až do doby měření¹¹.

7) extrakce roztokem NaHCO₃

Vzorek půdy se extrahuje 0,5 mol.l⁻¹ NaHCO₃ v poměru 1:20 (w/v), pH = 8,5 při teplotě místnosti následovně: 2,0 g vzorku půdy se naváží do 100 ml polyethylenové lahvičky a zalije se 40 ml 0,5 mol.l⁻¹ NaHCO₃. Reakční směs je mechanicky protřepávána po dobu 30 minut, poté je roztok centrifugován po dobu 10 minut při 3000 otáčkách (Hettich Universal 30 RF). Supernatant je uložen ve zkumavkách při teplotě 6 °C až do doby měření¹².

Celkový obsah As v půdách byl stanoven v mineralizátech získaných předchozím dvoustupňovým rozkladem s využitím přístroje APION v jeho suché fázi a s přítomností HF v jeho mokré fázi¹³. Veškeré analýzy byly provedeny v prostorách a s vybavením Stopové laboratoře katedry chemie ČZU Praha, pouze celkové rozklady vzorků půd byly provedeny ve Sdružené ultrastopové laboratoři při ČGÚ Praha.

Ke kontrole kvality analytických dat byly použity certifikované referenční materiály dle následujícího schématu:

1. rostlinný materiál: RM 12-02-03 Lucerne

certifikováno	0,263 ± 0,007 mg As.kg ⁻¹
nalezeno	0,262 ± 0,024 mg As.kg ⁻¹

2. půda: RM 7003 Silty Clay Loam

– celkový obsah

certifikováno	16,7 ± 3,1 mg As.kg ⁻¹
nalezeno	15,4 ± 2,7 mg As.kg ⁻¹

- obsah extrahovatelný 2 mol.l⁻¹ HNO₃

certifikováno	1,30 ± 0,19 mg As.kg ⁻¹
nalezeno	1,58 ± 0,04 mg As.kg ⁻¹

Tabulka I

Celkový a extrahovatelný obsah As ve vybraných vzorcích půd ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) (AVG - aritmetický průměr, SD - směrodatná odchylka)

Vzorek	Celkový obsah		$2 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1} \text{HNO}_3$		$0,43 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1} \text{CH}_3\text{COOH}$		$0,005 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1} \text{DTPA}$	
	AVG	SD	AVG	SD	AVG	SD	AVG	SD
Přestanov	25,8	5,2	5,71	0,42	0,261	0,016	0,003	0,000
Lom	42,5	3,5	39,50	1,52	1,507	0,161	0,073	0,010
Lahošť	39,5	13,2	38,04	3,32	4,323	0,936	0,220	0,030
Č. Újezd	19,7	5,5	2,29	0,22	0,540	0,050	0,047	0,002
Suchdol	16,8	4,1	4,83	0,48	1,981	0,129	0,031	0,009
Kbely	16,7	4,6	3,15	0,29	1,085	0,032	0,021	0,004
Přerov	4,4	1,0	1,83	0,35	0,381	0,032	0,022	0,005

Vzorek	$0,01 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1} \text{CaCl}_2$		$1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1} \text{NH}_4\text{NO}_3$		$0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1} \text{NaNO}_3$		$0,5 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1} \text{NaHCO}_3$	
	AVG	SD	AVG	SD	AVG	SD	AVG	SD
Přestanov	0,033	0,009	0,004	0,000	0,006	0,000	0,054	0,009
Lom	0,146	0,013	0,041	0,010	0,047	0,005	0,297	0,012
Lahošť	0,266	0,030	0,089	0,001	0,129	0,009	0,855	0,063
Č. Újezd	0,039	0,001	0,024	0,002	0,032	0,002	0,174	0,027
Suchdol	0,053	0,007	0,014	0,002	0,027	0,001	0,380	0,055
Kbely	0,042	0,002	0,017	0,000	0,021	0,001	0,301	0,088
Přerov	0,036	0,007	0,016	0,002	0,029	0,004	0,084	0,003

3. Výsledky a diskuse vzorků půd se jedná pouze o 12-19 %.

Výsledky stanovení celkových a extrahovatelných koncentrací As ve vzorcích půd shrnuje tabulka I.

Z této tabulky je zřejmý rozdíl v síle jednotlivých vy-luhovadel klesajících v pořadí $2 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1} \text{HNO}_3 > 0,43 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1} \text{CH}_3\text{COOH} > 0,5 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1} \text{NaHCO}_3 > 0,01 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1} \text{CaCl}_2 > 0,005 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1} \text{DTPA} > 0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1} \text{NaNO}_3 > 1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1} \text{NH}_4\text{NO}_3$. Podíl půdního arsenu extrahovatelný roztokem DTPA je malý, podobně jako podíly extrahovatelné roztoky neutrálních solí. To naznačuje, že zde nedochází k částečnému uvolnění organicky vázaného prvku jako je tomu u některých těžkých kovů⁷, a že DTPA, velmi často preferovaná při studiu přijatelnosti těžkých kovů z půdy rostlinami bude mít v případě As menší význam. Mimořádně velké rozdíly byly zaznamenány v podílu extrahovatelného As z jednotlivých půd. Zatímco u půd z lokalit Lom a Lahošť představuje HNO_3 extrahovatelný obsah až 93, resp. 96 % celkového obsahu As, v případě velmi lehké písčité půdy z lokality Přerov n. L. se jedná o 42 % a u zbývajících

Podobná situace, ale s menšími rozdíly mezi jednotlivými půdami nastala i u dalších extraktantů, kdy např. u CaCl_2 se extrahovatelné obsahy As pohybovaly v rozmezí 1,2 % (Červený Újezd) - 0,8 % (Přerov n. L.). u DTPA pak v rozmezí 0,1 % (Kbely) - 0,5 % (Lahošť) z celkového obsahu tohoto prvku. V případě vzorků Lom a Lahošť se jedná o lokality z oblastí severních Čech, která je pravděpodobně kontaminována spadem z tepelných elektráren, který je zdrojem snadno extrahovatelného arsenu. Tuto domněnku bude nutno ještě ověřit pokusem s extrahovatelností samotného elektrárenského popílku.

Výsledky analýzy rostlinného materiálu (tabulka II) prokázaly nejvyšší koncentrace As ve vzorcích pěstovaných na půdách z lokalit Lom a Lahošť; obsahy arsenu ve vzorcích pěstovaných na lehké, písčité půdě z lokality Přerov n. L. pak převýšily obsahy tohoto prvku v rostlinách pěstovaných na půdách z lokalit Červený Újezd a Kbely s několikanásobně vyšším celkovým obsahem arsenu. V biomase ředkviček došlo vzhledem k vysokému podílu

hmotnosti bulvy na celkové hmotnosti rostliny ke zředění obsahu As v bulvách, takže jeho obsah v sušině nadzemní části byl vyšší ve srovnání s bulvou.

Tabulka II

Celkový obsah As v rostlinách ředkvičky (mg.l^{-1} sušiny) (AVG - aritmetický průměr, SD - směrodatná odchylka)

Půda	Nař		Bulva	
	AVG	SD	AVG	SD
Lom	1,634	0,266	0,988	0,073
Lahošť	2,047	0,322	2,030	0,325
Č.Újezd	0,666	0,044	0,524	0,061
Kbely	0,848	0,323	0,762	0,179
Přerov n/L	0,896	0,220	0,768	0,288

Tabulka III

Výsledky lineární regrese analýzy závislosti obsahu As v biomase ředkviček na jeho extrahovatelném obsahu v půdě

Extraktant	Listy		Bulva	
	r	y	r	y
Celk. obsah	0,84	$0,46 + 0,03x$	0,63	$0,45 + 0,02x$
HNO_3	0,95	$0,74 + 0,03x$	0,75	$0,64 + 0,02x$
CH_3COOH	0,89	$0,70 + 0,33x$	0,98	$0,45 + 0,36x$
DTPA	0,87	$0,74 + 6,24x$	0,96	$0,49 + 6,82x$
CaCl_2	0,98	$0,55 + 6,84x$	0,93	$0,39 + 6,42x$
NH_4NO_3	0,91	$0,56 + 17,7x$	0,96	$0,32 + 18,6x$
NaNO_3	0,87	$0,61 + 11,7x$	0,97	$0,34 + 13,0x$
NaHCO_3	0,84	$0,65 + 1,65x$	0,95	$0,37 + 1,88x$

Vysoké hodnoty korelačních koeficientů (viz tabulka III) naznačují citlivost ředkviček na celkové obsahy tohoto prvku v půdách. Výsledek je však zřejmě ovlivněn malou četností hodnoceného souboru a významnými rozdíly v celkovém obsahu As v testovaných půdách. Získaná data naznačují těsnější závislost obsahu As v půdě a v listech ve srovnání s bulvou. Podobný obrázek pak z výše uvedených důvodů poskytla lineární regrese analýza závislosti obsahu As v rostlině na extrahovatelných obsahích tohoto prvku v půdě. V případě HNO_3 jsou výsledky regrese analýzy

vztahu bulva - extraktant zcela srovnatelné s celkovým obsahem As a naznačují tedy, že tento extraktant bude vzhledem ke své účinnosti dávat informace spíše o celkovém obsahu tohoto prvku v půdě než o jeho přijatelnosti.

V případě všech použitých nepufrujících i pufrujících (NaHCO_3) solí a kyseliny octové můžeme považovat získané výsledky lineární regrese analýzy za srovnatelné.

I přes malou četnost dat v jednotlivých souborech se zdá, že $0,01 \text{ mol.l}^{-1}$ roztok CaCl_2 by mohl být vhodným univerzálním extraktantem pro hodnocení přijatelnosti jak arsenu, tak i kontaminujících těžkých kovů, pro které je tento extraktant řadou autorů preferován^{9,14}. Z jeho výhod oproti jiným extraktantům můžeme zdůraznit následující: obsahuje srovnatelné koncentrace solí jako průměrný půdní roztok a zároveň nízká koncentrace solí v roztoku nepůsobí významné komplikace při vlastním stanovení obsahu prvků. Tento omezený soubor půd naznačuje ve shodě s literárními prameny, že fyzikálně-chemické vlastnosti jednotlivých půd mají dominující vliv na přijatelnost As rostlinami, soubor je však zatím příliš málo početný pro komplexní zhodnocení těchto vlivů. Určitý vliv bude mít také rozdílná extrahovatelnost a tím i rozdílná přijatelnost různých forem

As rostlinami.

4. Závěr

Při sledování uvolněného arsenu z půdy jednotlivými vyluhovacími bylo zjištěno následující sestupné pořadí extrahovatelnosti tohoto prvku použitými činidly: $2 \text{ mol.l}^{-1} \text{HNO}_3 > 0,43 \text{ mol.l}^{-1} \text{CH}_3\text{COOH} > 0,5 \text{ mol.l}^{-1} \text{NaHCO}_3 > 0,01 \text{ mol.l}^{-1} \text{CaCl}_2 > 0,005 \text{ mol.l}^{-1} \text{DTPA} > 0,1 \text{ mol.l}^{-1} \text{NaNO}_3 > 1 \text{ mol.l}^{-1} \text{NH}_4\text{NO}_3$.

Lineární regrese analýza prokázala těsnější závislosti mezi obsahem As uvolněným jednotlivými vyluhovacími z půdy a jeho celkovou koncentrací v listech než v kořenech. I přes malou četnost souboru se jeví $0,01 \text{ mol.l}^{-1} \text{CaCl}_2$ jako vhodné extrakční činidlo pro hodnocení přístupnosti arsenu rostlinám.

LITERATURA

- O'Neill P.: *Heavy Metals in Soils*. Blackie, London 1990.
- Chaney R. L.: *Final Report of the Workshop on the Intern. Transportation*. Pan American Health Organisation, Washington 1985.

3. Pyles R. A., Woolson E. A.: J. Agric. Fd. Chem. 30, 866 (1982).
4. Carbonell-Barrachina A., Burlo-Carbonell F., Mataix-Beneito J.: J. Plant Nutr. 17, 1887 (1994). *Příspěvek*
5. Tu C, Miao J. Y., He F.: Journal of Southwest Agricultural University 14, MI (1992).
6. Kozák J.: *Zpráva katedry pedologie*. VŠZ, Praha 1990.
7. Ure A., Quevauviller P., Muntau H., Griepink B.: BCR Information EUR 14763 EN, Community Bureau of Science (1993).
8. Lindsay W. L., Norwell W. A.: Soil Sci. Soc. Amer. J. 42, 421 (1978). **Available Part of Soil Arsenic**
9. Novozamsky J., Lexmond T. M., Houba V. J. G.: Intern. J. Environ. Anal. Chem. 57, 47 (1993).
10. Symeonides C., McRae S. G.: J. Environ. Qual. 6, 120 (1977).
11. Swiss Ordinance on Heavy Metal Contents in Soil Nr. SR 814.01 (1986).
12. Page A. L. (Ed): ASA Publication No 9 (Part), series Agronomy, ASA, SSSA, Madison (WI) (1982).
13. Mader P., Száková J., Svatoš Z., Miholová D.: *Možnosti použití suchého rozkladu pro stanovení toxických prvků v průmyslovém kompostu*. Konference „Těžké kovy v životním prostředí“, České Budějovice 1990.
14. Tlustoš P., Pavlíková D., Száková J., Van Dijk D.: Proc. 3rd ESA Congress, Abano-Padova 1994, 544.
15. Marin A. R., Masscheleyn P. H., Patrick W. H., Jr.: Plant and Soil 139, 135 (1992).

byl přednesen dne 4.9.1996 na XXX semináři o metodice stanovení a významu stopových prvků v biologickém materiálu v Karlíku u Dobřichovic.

J. Száková, P. Tlustoš, D. Pavlíková, and J. Balík
(Department of Agrochemistry and Plant Nutrition, Czech University of Agriculture, Prague): **Suitability of Different Extraction Agents for the Determination of Plant-**

Several soil-extraction agents were tested for the determination of plant-available As showing the following decreasing order of As extractability from soil: $2 \text{ mol.l}^{-1} \text{ HNO}_3 > 0.43 \text{ mol.l}^{-1} \text{ CH}_3\text{COOH} > 0.5 \text{ mol.l}^{-1} \text{ NaHCO}_3 > 0.01 \text{ mol.l}^{-1} \text{ CaCl}_2 \geq 0.005 \text{ mol.l}^{-1} \text{ DTPA} > 0.1 \text{ mol.l}^{-1} \text{ NaNO}_3 > 1 \text{ mol.l}^{-1} \text{ NH}_4\text{NO}_3$. The relationship between As released by the individual extraction agents and As concentrations in radishes was obtained by linear-regression analysis. The As concentrations in leaves seem to more closely correlate with the soil-extractable As than the concentrations in roots. The $0.01 \text{ mol.l}^{-1} \text{ CaCl}_2$ proved the suitable extraction agent for the evaluation of availability of the soil As by plants.