

PEPTYZACJA KWASÓW HUMINOWYCH POCHODZĄCYCH Z MURSZY
PRZY RÓŻNYCH STĘŻENIACH JONÓW FOSFORANOWYCH*

Dorota Matyka-Sarzyńska, Zofia Sokołowska

Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego PAN, ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin
e-mail: dmatyka@ipan.lublin.pl

Streszczenie. Materiałem do badań stanowiło pięć murszy o różnym stopniu wtórnych przeobrażeń. Celem pracy było zbadanie wpływu stężenia anionu jednowodorofosforanowego na peptyzację kwasów huminowych, wyekstrahowanych metodą Schnitzera z murszy wstępnie przeprowadzonych w formy wapniowe. Ilości kwasów huminowych w fazie ciekłej określano mierząc absorbancję przy długości fali 470 nm. Dla wszystkich badanych gleb podczas dodawania anionów jednowodorofosforanowych o rosnących stężeniach wyróżniono na krzywych uwalniania kwasów huminowych (HA) dwa obszary o różnych mechanizmach oddziaływania jonów fosforanowych z humianami wapnia. W zakresie małych stężeń jonów jednowodorofosforanowych zaobserwowano dodatkową koagulację kwasów huminowych z fazy ciekłej. Wraz ze wzrostem stopnia wtórnych przeobrażeń zwiększeniu uległa ilość uwolnionych HA z badanych utworów murszowych.

Słowa kluczowe: mursze, fosforany, peptyzacja, kwasy huminowe, stopień wtórnych przeobrażeń.

WSTĘP

Gleby murszowe są bogatym źródłem związków organicznych, które uruchomione mogą stanowić przyczynę zanieczyszczenia wód gruntowych, cieków wodnych oraz zbiorników wodnych [10]. Do czynników decydujących o uruchamianiu glebowych związków organicznych należą zmiany temperatury, odczynu i składu jonowego wywołane między innymi pojawieniem się w roztworze glebowym fosforanów. Fosforany dostają się do gleb głównie z nawożeniem mineralnym [6]. Innym źródłem fosforanów są wylewiska ścieków bytowych, często wprost do wód przepływających w pobliżu osad wiejskich i zabudowań [11].

* Część pracy wykonano w ramach projektu badawczego nr 2 P04G 079 29 finansowanego przez Ministerstwo Nauki i Edukacji.

Pomimo ciągłego wzrostu ilości fosforanów pochodzących ze źródeł antropogenicznych w dalszym ciągu uznaje się, że mają one stosunkowo mały udział w zanieczyszczeniach wód. Wiąże się to ze zjawiskiem unieruchamiania fosforanów w glebie dzięki procesowi sorpcji chemicznej [15,17,20]. Obecność fosforanów w glebie stwarza jednak potencjalne możliwości uwalniania związków organicznych do roztworu glebowego. Analiza produktywności gleb Polski oraz rosnące zapotrzebowanie na krajowe produkty rolnicze przewiduje wzrost zużycia nawozów mineralnych. Wraz z prognozowanym wzrostem wnoszonych nawozów, w tym fosforanowych, zjawisko uwalniania substancji organicznych pod wpływem fosforanów może w najbliższych latach narastać.

Większość dotychczasowych badań nad związkami fosforu w środowisku glebowym prowadzona była w aspekcie jego przydatności jako składnika pokarmowego roślin, czynnika wywołującego eutrofizację wód oraz procesami sorpcji i migracji w glebie [1,4,18,19]. W piśmiennictwie obserwuje się niedostatek danych pozwalających oszacować wpływ obecności w roztworze glebowym uwalnianych lub wolnych fosforanów na proces peptyzacji substancji organicznej, tak więc powyższy temat wydaje się stanowić interesujący problem nie tylko naukowy ale i praktyczny.

Celem pracy było określenie wpływu anionu jednowodorofosforanowego (HPO_4^{2-}) o różnych stężeniach na peptyzację kwasów huminowych wyekstrahowanych z pięciu murszy i wstępnie przeprowadzonych w formy wapniowe.

MATERIAŁY I METODY

Do badań wykorzystano pięć murszy użytkowanych rolniczo jako łąki, pochodzących z terenów Polesia Lubelskiego i okolic rzeki Biebrzy. Wyboru próbek dokonano głównie pod względem dużego zróżnicowania stopnia z murszenia. Ocena stanu zaawansowania przeobrażeń wtórnych, jakim uległy badane utwory torfowe wskutek ich odwodnienia, przeprowadzona została na podstawie wskaźnika chłonności wodnej, W_1 [2]. Wskaźnik ten, wyrażający stosunek najmniejszej chłonności wodnej danego utworu torfowego, tj. takiej jaką wykazuje on po wysuszeniu do stanu absolutnie suchego, do jego chłonności wodnej największej, czyli takiej jaką charakteryzuje się utwór w stanie świeżym (bezpośrednio po pobraniu z pola), oznaczono metodą wirówkową. Ma on postać ułamka dziesiętnego i wylicza się go ze wzoru:

$$W_1 = c \cdot a^{-1}$$

gdzie: a – zawartość wody w świeżej, nasycanej wodą przez 7 dni próbce glebowej, po odwirowaniu jej z prędkością odpowiadającą 1000 g, wyrażona w g wody $\cdot 100 \text{ g}^{-1}$ absolutnie suchej masy gleby (asm), c – zawartość wody w nasycanej

wodą przez 7 dni uprzednio wysuszonej w 105°C próbce glebowej, po odwirowaniu jej z prędkością odpowiadającą 1000 g wyrażona w g wody·(100 g)⁻¹ absolutnie suchej masy gleby (asm).

W badanych murszach oznaczono popielność, gęstość objętościową, całkowitą porowatość oraz pH w wodzie i KCl standardowymi metodami laboratoryjnymi.

Ekstrakcja HA wg zmodyfikowanej metody Schnitzera

Glebę wstępnie oczyszczono z kationów wymiennych i rozpuszczalnych składników amorficznych: 200 g powietrznie suchej gleby zalano na 24 godz. 0,05 M HCl w stosunku wagowym 1:10. Zawiesinę od czasu do czasu wstrząsano. Roztwór oddzielono przez wirowanie i odrzucono. Pozostałość umieszczono w szklanych kolumnach o przepuszczalnym dnie i przemywano wodą destylowaną do momentu pojawienia się początków procesu peptyzacji. Po oczyszczeniu, próbkę gleby umieszczoną w plastikowym pojemniku zalano 0,5M NaOH w stosunku 1:20 i pozostawiono na 24 godz. w temperaturze pokojowej, w atmosferze azotu, sporadycznie mieszając. Roztwór zawierający HA oddzielono od pozostałości przez wirowanie. Osad ponownie umieszczono w plastikowym pojemniku i powtórzono ekstrakcję. Uzyskane po wirowaniu roztwory zawierające HA połączono w jednym naczyniu a następnie zakwaszono roztworem 6M HCl do momentu aż zaczął strącać się osad kwasów huminowych (pH ~ 2) i odstawiono do dnia następnego. Osad HA po dekantacji oddzielono od pozostałego roztworu przez wirowanie. W celu oczyszczenia otrzymanych kwasów huminowych z krzemionki, preparat wytrząsano przez 48 godz. z 350 ml mieszaniny kwasów HCl i HF. Po oczyszczeniu osad kwasów huminowych przemywano wodą destylowaną do zaniku reakcji na Cl⁻ lub dłużej aż do momentu rozpoczęcia procesu peptyzacji [14,15]. Z tak uzyskanych preparatów sporządzono pięć zawiesin wyjściowych o jednakowych stężeniach.

Strącenie HA roztworem chlorku wapnia

Z każdej zawiesiny wyjściowej pobrano przy użyciu filtrów strzykawkowych z membraną o porach wielkości 0,45 μm po pięć porcji roztworu i umieszczono je w osobnych zlewkach. Do każdego naczynia dodano krystaliczny sześciowodny CaCl₂ tak aby końcowe stężenie wapnia wynosiło 0,05 M (było to takie stężenie kationu wapnia po przekroczeniu którego nie strącało się więcej HA z roztworu – co zostało stwierdzone w trakcie doświadczeń wstępnych). Po ustaleniu równowagi określono stężenia HA pozostających w roztworze nad osadem humianu wapnia dla wszystkich próbek.

Uwalnianie HA z osadów

Do zlewek zawierających osady humianu wapnia dodawano jednakowe objętości roztworów jednowodorofosforanu sodu o kilku różnych stężeniach w taki sposób aby końcowe stężenia soli wynosiły kolejno 0,01; 0,015; 0,025; 0,035 oraz 0,05 M. Próbki energicznie wstrząsnęto i pozostawiono zamknięte na 24 godz. w celu ustalenia się równowagi.

Pomiar stężenia HA w fazie ciekłej

Ilości HA w fazie ciekłej czyli tych, które przeszły do roztworu podczas kolejnych etapów doświadczenia określano metodą spektrofotometrii w świetle widzialnym. W klarownych roztworach mierzono absorbancję przy długości fali 470 nm [3,5,7,13]. Pomiaru wykonywano na spektrofotometrze UV/VIS JASCO V-500. Z krzywej kalibracyjnej obliczano stężenia substancji organicznej w roztworze. Krzywą kalibracyjną sporządzono z serii dziesięciu roztworów soli sodowej handlowego kwasu huminowego (Aldrich H1, 675-2).

WYNIKI

Wyniki badań podstawowych charakterystyk fizycznych badanego materiału glebowego przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Wybrane właściwości fizyczne badanych murszy

Table 1. Selected physical properties of investigated mucks

Nr	W ₁	Popiół Ash (% s.m)	Gęstość Bulk density (g·cm ⁻³)	Całkowita porowatość Total porosity (% obj.)	pH H ₂ O	pH KCl
1	0,44	22,7	0,21	88,5	5,1	4,5
2	0,55	17,6	0,25	84,6	5,5	5,2
3	0,65	18,9	0,31	80,9	5,5	5,0
4	0,72	18,0	0,36	77,8	5,0	4,5
5	0,82	22,3	0,39	78,7	5,5	5,0

W₁ – stopień wtórnych przeobrażeń – stage of secondary transformation.

Wszystkie badane mursze charakteryzują się niską popielnością (<23%). Duża zmienność gęstości objętościowej (od 0,21 do 0,39 g·cm⁻³) jest wynikiem zróżnicowania badanych gleb pod względem zmurszenia i stopnia wtórnych przeobrażeń. Całkowita porowatość jest zbliżona, co wskazuje na ogólne podobieństwo

struktury badanych murszy, spowodowane znaczną zawartością materii organicznej. Wszystkie badane gleby należą do silnie i średnio kwaśnych, co jest charakterystyczne dla większości gleb torfowych podlegających procesowi murszenia. Próbkę nr 1 posiada wartość współczynnika chłonności wodnej, W_1 równą 0,44 i należy do klasy utworów będących w inicjalnej fazie wtórnych przeobrażeń. Klasa utworów słabo wtórnie przeobrażonych jest reprezentowana przez próbkę nr 2 o $W_1 = 0,55$. Kolejne dwie gleby należą do klasy utworów średnio wtórnie przeobrażonych. Gleba nr 5, o $W_1 = 0,82$ zaliczana jest do klasy gleb silnie wtórnie przeobrażonych.

W tabeli 2 pokazano zawartość HA nad osadami humianów wapnia w zależności od stężenia jonów fosforanowych w roztworze, na tle wzrastającego wskaźnika chłonności wodnej, W_1 , badanych murszy.

Tabela 2. Stężenia ($\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$) uwolnionych kwasów huminowych

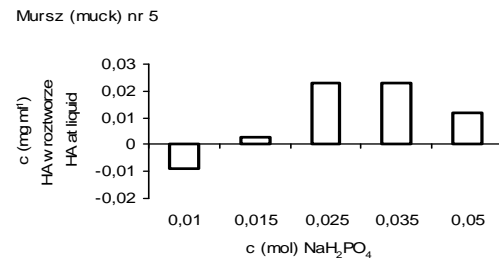
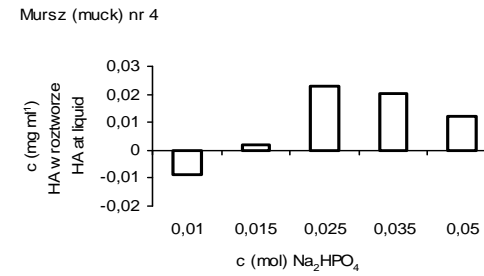
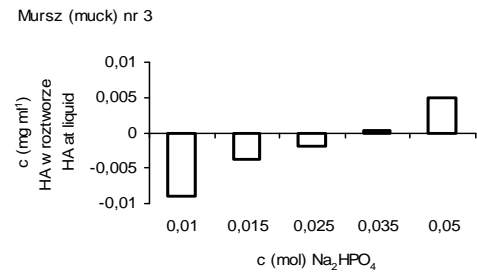
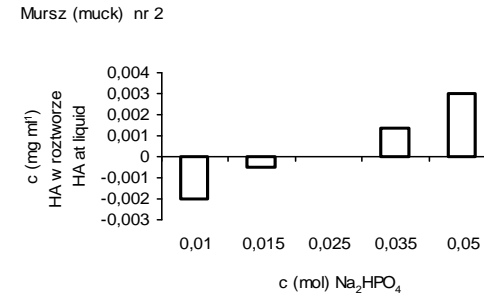
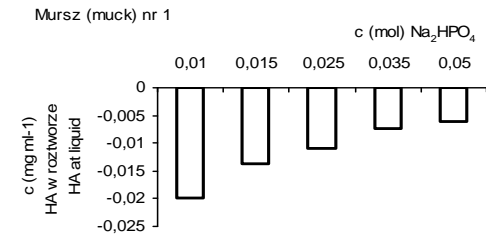
Table 2. Concentrations (mg ml^{-1}) of released humic acids

Nr	W_1	c_1	C_{P1}	C_{P2}	C_{P3}	C_{P4}	C_{P5}
1	0,44	0,03	0,011	0,016	0,019	0,023	0,024
2	0,55	0,01	0,008	0,010	0,010	0,011	0,013
3	0,65	0,02	0,011	0,016	0,018	0,020	0,025
4	0,72	0,02	0,011	0,022	0,043	0,041	0,032
5	0,82	0,02	0,013	0,023	0,054	0,043	0,050

W_1 – stopień wtórnych przeobrażeń, c_1 – stężenie HA w fazie ciekłej nad osadem w próbce kontrolnej, C_{P1} – stężenie HA w fazie ciekłej po dodaniu anionu Na_2HPO_4 o stężeniu = 0,01M; C_{P2} – stężenie HA w fazie ciekłej po dodaniu anionu o stężeniu = 0,015M; C_{P3} – stężenie HA w fazie ciekłej po dodaniu anionu o stężeniu = 0,025M; C_{P4} – stężenie HA w fazie ciekłej po dodaniu anionu o stężeniu = 0,035M; C_{P5} – stężenie HA w fazie ciekłej po dodaniu anionu o stężeniu = 0,05M.

W_1 – stage of secondary transformation, c_1 – control; C_{P1} – concentration of HA at liquid after the addition of Na_2HPO_4 (0.01M); C_{P2} – concentration of HA at liquid after the addition of Na_2HPO_4 (0.015M); C_{P3} – concentration of HA at liquid after the addition of Na_2HPO_4 (0.025M); C_{P4} – concentration of HA at liquid after the addition of Na_2HPO_4 (0.035M); C_{P5} – concentration of HA at liquid after the addition of Na_2HPO_4 (0.05M).

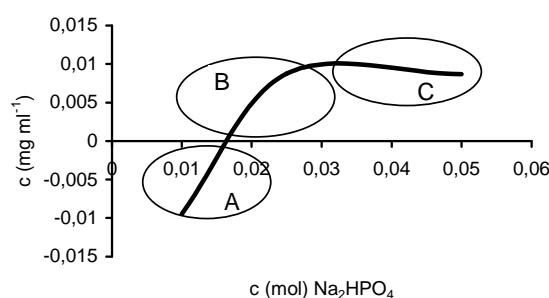
Przebieg procesów peptyzacji i koagulacji HA dla badanych utworów glebowych pod wpływem anionów jednowodorofosforanowych zilustrowano na rysunku 1. Uzyskane wyniki pokazują, że najsilniejsze działanie peptyzujące na osad humianu wapnia wykazuje dodatek anionu jednowodorofosforanowego o stężeniu 0,025 M do próbki pochodzącej z murszu nr 5 (najsilniej wtórnie przeobrażonego). Również dla gleby nr 4 stwierdzono maksimum uwalniania HA do roztworu przy stężeniu dodawanego anionu równym 0,025 M. Dla pozostałych próbek maksimum procesu peptyzacji HA do fazy ciekłej przypada na stężenie anionu



Rys. 1. Uwalnianie HA, w zależności od stężenia dodanej soli
Fig. 1. Release of humic acids, HA, versus the concentration of added salt

fosforanowego równe 0,05 M. W przypadku próbki (nr 1) o najniższym, inicjalnym stopniu wtórnych przeobrażeń obserwuje się jedynie koagulację HA z roztworu tym mniejszą im większe jest stężenie fosforanów.

Na rysunku 2 przedstawiono zależność pomiędzy średnim stężeniem (średnia arytmetyczna dla wszystkich badanych murszy) HA w fazie ciekłej i wzrostem stężenia dodawanych anionów jednowodorofosforanowych.



Rys. 2. Zależność pomiędzy średnim stężeniem HA w fazie ciekłej i stężeniami dodanej soli Na_2HPO_4 ; A – obszar koagulacji HA, B – obszar peptyzacji HA, C – obszar koagulacji HA

Fig. 2. Relationship between the average concentration of HA at liquid and concentrations of added salt Na_2HPO_4 ; A – coagulation of HA, B – release of HA, C – coagulation of HA

Dla wszystkich pięciu gleb podczas dodawania anionów jednowodorofosforanowych o rosnących stężeniach można wyróżnić dwa obszary (A i B na rysunku 2) różnych mechanizmów oddziaływania jonów fosforanowych na humiany wapnia. W zakresie małych stężeń jonów jednowodorofosforanowych obserwuje się dodatkową koagulację kwasów huminowych z fazy ciekłej (ujemne wartości c w mg ml^{-1} na rysunku 1). Występowanie tego zjawiska można wytłumaczyć wiązaniem przez jony jednowodorofosforanowe tych cząsteczek organicznych, na powierzchniach których obecne są związki glinu lub żelaza. Wskazuje to na niecałkowite usunięcie polikationów czy też kationów żelaza i glinu podczas przemywania próbek. Kationy takie są silnie chelatowane przez glebowe związki organiczne. Kompleksowanie makromolekuł organicznych przez aniony jednowodorofosforanowe za pośrednictwem atomów żelaza i glinu jest istotnym mechanizmem unieruchamiania fosforanów w glebie. Połączenia te są najbardziej stabilne w środowisku obojętnym względnie alkalicznym [14]. Obecność żelaza w murszach będących przedmiotem niniejszej pracy została stwierdzona we wcześniejszych badaniach Matyka-Sarzyńskiej i Sokołowskiej [8,9] nad podatnością magnetyczną (MS) oraz potwierdzona przez widma wykonane metodą spektroskopii efektu Moessbauer'a. Również obecność glinu w badanych utworach jest wysoce prawdopodobna.

Po opisanym wyżej początkowym procesie koagulacji stwierdzono wzrost stężenia HA w fazie ciekłej (obszar B na rysunku 2). Wykazano, że zwiększenie stężenia jonów fosforanowych spowodowało wzrost peptyzacji HA, co zachodziło zapewne w wyniku usuwania z fazy stałej koagulujących kationów wapniowych. Między innymi w badaniach Reemtsmy i in. [12] najwięcej substancji organicznej wymyto z gleby właśnie pod wpływem Na_2HPO_4 w środowisku słabo kwaśnym. Nie wykluczone jest również tworzenie się ruchliwych kompleksów fosforowo-próchnicznych [14,16,19,20]. Można przypuszczać, że suma tych efektów składa się na peptyzujące działanie fosforanów w stosunku do materii organicznej.

Ponadto w przypadku próbek nr 4 i 5 (rys. 1) charakteryzujących się najwyższym współczynnikiem stopnia wtórnych przeobrażeń, stwierdza się ponowną koagulację prowadzącą do spadku stężenia uwolnionych HA (obszar C na rysunku 2). Może to być wynikiem obniżenia pH roztworu na skutek dodatku fosforanu dwusodowego, bądź też wzrostem mocy jonowej roztworu. Dzięki obniżeniu grubości podwójnej warstwy dyfuzyjnej, zmniejszają się siły odpychania pomiędzy cząsteczkami substancji organicznej i w efekcie może wystąpić koagulacja cząsteczek HA o odpowiednio dużej wielkości.

WNIOSKI

1. Stwierdzono, że maksimum peptyzującego działania anionu jednowodorofosforanowego zależy od stopnia wtórnych przeobrażeń gleby.
2. Wraz ze wzrostem stopnia wtórnych przeobrażeń zwiększeniu uległa ilość uwolnionych HA z badanych utworów murszowych.
3. W glebach murszowych aniony fosforanowe w zakresie stężeń od 0,02 do 0,03 M mogą powodować peptyzację substancji organicznych poprzez usunięcie z fazy stałej koagulujących kationów wielowartościowych.

PIŚMIENNICTWO

1. **Addiscott T.M., Thomas D.:** Tillage, mineralization and leaching: phosphate. *Soil Till. Res.*, 53, 255-273, 2000.
2. **Gawlik J.:** Water holding capacity of peat formations as an index of the state of their secondary transformation, *Pol. J. Soil Sci.*, 2, 121-126, 1992.
3. **Ghosh K., Schnitzer M.:** UV and Visible absorption spectroscopic investigations in relation to macromolecular characteristics in humic substances. *J. Soil Sci.*, 30, 735-745, 1979.
4. **Kiryłuk A.:** Wpływ sposobu użytkowania torfowiska niskiego na zawartość biogenów i innych składników w wodach gruntowych i w wodach z rowów melioracyjnych na obiekcie Supraśl Dolna. *Acta Agrophysica*, 1(2), 245-253, 2003.
5. **Kononowa M.M.:** Soil organic matter, Pergamon, Elmsford, N.Y. 1966.
6. **Kozanecka T., Brogowski Z., Wagner J., Jeske K., Maciejewska A.:** Effect of fertilization on anion mobility in lessive soil. *Pol. J. Soil Sci.* 2, 21-30, 2000.

7. **MacCarthy P., Rice J.A.:** Spectroscopic methods (other than NMR) for determining functionality in humic substances. In G.R. Aiken et al. (ed.) Humic substances in soil, sediment and water. John Wiley and Sons, New York. 1985.
8. **Matyka-Sarzyńska D., Sokołowska Z.:** Investigation of iron status in Terric Histosols. *Inter. Agrophys.*, 16, 133-137, 2002a.
9. **Matyka-Sarzyńska D., Sokołowska Z.:** Zawartość żelaza w wybranych utworach murszowych, *Acta Agrophysica*, 68, 123-130, 2002b.
10. **McDowell W.H., Wood T.:** Podzolization: soil processes control dissolved organic carbon concentrations in stream water. *Soil Sci.*, 137, 23-32, 1984.
11. **Miler A.T., Liberacki D., Plewiński A.:** Jakość wód gruntowych w różnych siedliskach położonych wzdłuż transektów odpływu wody. *Zesz. Probl. Post.Nauk Roln.*, 477, 96-100, 2001.
12. **Reemtsma T., Bredow A., Gehring M.:** The nature and kinetic of organic matter release from soil by salt solutions. In *Europ. J. Soil Sci.* 50, pp. 53, 1999.
13. **Sapek B., Sapek A.:** Changes in the properties of humus substances and the sorption complex in reclaimed peat soils, *Int. Peat J.*, 2, 99-117, 1987.
14. **Schlichting A., Leinweber P., Meissner R., Altermann M.:** Sequentially extracted phosphorus fractions in peat-derived soils. *J.Plant Nutr. Soil Sci.* 165, 290-298, 2002.
15. **Schnitzer M., Khan S.U.:** Soil organic matter, Elsevier. *Sci. Pub.Comp.*, N.Y., 1978.
16. **Shand C.A., Smith S.:** Enzymatic release of phosphate from model substrates and P compounds in soil solution from peaty podzol. *Biol. Fertil. Soils.* 24, 183-187, 2003.
17. **Sposito G.:** 1989. *The Chemistry of Soils*, N.Y., Oxford, Oxford University Press.
18. **Stevenson F.J.:** Cycles of soil-Carbon, nitrogen, phosphorus, sulfur, micronutrients. N.Y., J. Wiley, 380, 1986.
19. **Turner B.L., McKelvie I. D., Hayagarth P. M.:** Characterisation of water-extractable soil organic phosphorus by phosphatase hydrolysis. *Soil Biol. Bioch.*, 34, 27-35, 2002.
20. **Wagar B.I., Stewart J.W.B. , Moir J.O.:** Changes with time in the form and availability of residual fertilizer phosphorous on Chernozemic soils. *Can. J. Soil Sci.*, 66, 105-119, 1986.

EFFECT OF PHOSPHATE AT DIFFERENT CONCENTRATION ON RELEASE OF HUMIC ACIDS FROM MUCKS

Dorota Matyka-Sarzyńska, Zofia Sokołowska

Institute of Agrophysics of the Polish Academy of Science
ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin
e-mail: dmatyka@ipan.lublin.pl

Abstract. The study was conducted on five muck samples. Humic acids (HA) were extracted from mucks by the Schnitzer method. Calcium forms of extracted humic substances were treated with Na_2HPO_4 solutions at increasing concentrations. Concentrations of released HA were determined at 470 nm. At low, initial, phosphate concentration additional coagulation of HA from solution was observed. Generally, the amount of released organic matter was found to increase with the state of secondary transformation.

Keywords: mucks, phosphate, humic acids, stage of secondary transformation