Pogodnost metoda za utvrđivanje organskog fosfora u tlu

Marković, Ivana

Master's thesis / Diplomski rad

2016

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of agriculture / Sveučilište Josip Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:151:985934

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek - Repository of the Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek

zir.nsk.hr

Image not found or type unknown

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Ivana Marković
Sveučilišni diplomski studij smjera
Ekološka poljoprivreda

POGODNOST METODA ZA UTVRĐIVANJE ORGANSKOG FOSFORA U TLU

Diplomski rad

Osijek, 2016.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Ivana Marković
Sveučilišni diplomski studij smjera
Ekološka poljoprivreda

POGODNOST METODA ZA UTVRĐIVANJE ORGANSKOG FOSFORA U TLU

Diplomski rad

Osijek, 2016.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Ivana Marković
Sveučilišni diplomski studij smjera
Ekološka poljoprivreda

POGODNOST METODA ZA UTVRĐIVANJE ORGANSKOG FOSFORA U TLU

Diplomski rad

Povjerenstvo za ocjenu i obranu rada:

1. prof. dr. sc. Suzana Kristek, predsjednik
2. doc. dr. sc. Brigita Popović, mentor
3. doc. dr.sc. Krunoslav Karalić, član
4. doc. dr. sc. Vladimir Ivezić, zamjenski član

Osijek, 2016.

SADRŽAJ

1. UVOD 1

2.PREGLED LITERATURE 3

1.2. Cilj istraživanje 6

3. MATERIJAL I METODE RADA 7

3.1. Laboratorijska istraživanja 7

3.1.1. Osnovne kemijske analize uzoraka tla 7

3.1.1.1. pH reakcija 7

3.1.1.2. Određivanje sadržaja organske tvari (humusa) 8

3.1.1.3. Određivanje biljci pristupačnog fosfora AL-P2O5 8

3.1.1.4. Određivanje karbonata u tlu 8

3.1.2. Određivanje labilnog organskog fosfora 9

3.1.3. Određivanje srednje labilnog (stabilni) organskog fosfora 9

3.1.4. Određivanje ukupnog organskog fosfora metodom po Kuo 12

3.2. Statistička obrada podataka 12

4. REZULTATI 13

4.1. Rezultati osnovne analize tla 13

4.1.1. Klasifikacija kiselosti tla 14

4.1.2. Klasifikacija opskrbljenosti tla fosforom 15

4.2. Rezultati analize organskog fosfora metodom NaOH u tri ekstrakcije 16

4.3. Rezultati analize organskog fosfora Kuo metodom 18

4.4. Statistička obrada podataka 18

5. RASPRAVA 21

5.1. Osnovna svojstva tla 21

5.2. Organski fosfor u tlu 23

6. ZAKLJUČCI 25

7. POPIS LITERATURE 26

8. SAŽETAK 28

9. SUMMARY 29

10. POPIS TABLICA

11. POPIS SHEMA

12. POPIS GRAFIKONA

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

BASIC DOCUMENTATION CARD

1. UVOD

Fosfor je nemetal koji se u prirodi, tlu i biljkama javlja u peterovalentnom obliku. Ulazi u sastav značajnih organskih spojeva kao što su nuleoproteidi, fosfolipidi, enzimi i mnogih drugih. (Vukadinović, 2011). Biljke ga asimiliraju u obliku fosfata (PO_4^{-3}). Ciklus fosfora u tlu je dinamičan proces koji uključuje tlo, biljke te mikroorganizme. Glavni proces uključuje unos fosfora u tlo od strane biljaka, recikliranje kroz povratak biljnih i životinjskih ostataka te razgradnja fosfornih spojeva u tlu. Na mnogo načina ciklus, fosfora je sličan je ciklusu dušika, no manje je složen. Ciklus fosfora u ekosustavu sastoji se od:razgradnje fosfornih spojeva u tlu,usvanjanja fosfora biljkom, ponovnog nastanka minerala tla.

Količina fosfora u ekosustavu je velika, ali količina koja je na raspolaganju organizmima je ekstremnom niska.

Fosfor u tlu potječe iz procesa razgradnje matičnih stijena, najviše apatita, a javalja se kao organski (20% - 60%) i anorganski (40% - 80%) vezan fosfor. Anorganski se fosfor nalazi u obliku različito topivih fosfata koji postaju pristupačni biljkama zahvaljujući aktivnosti korijenovog sustava i mokroorganizama tla (Popović i Karalić, 2014). Vremenski utjecaj i erozija stijena postupno oslobađaju fosfor kao fosfatni ion koji je topljiv u vodi. Biljke trebaju fosfor kao gnojivo ili hranjivo. Njegova pristupačnost biljkama najvećim dijelom ovisi o pH vrijednosti toga zemljišta (Vukadinović i Lončarić, 1997). Fosfati su ugrađeni u mnogim molekulama neophodnim za život kao što je ATP (denozin trifosfat) koji je važan za čuvanje i korištenje energije. Također je osnovica DNA i RNA (Znanost.com,2010). Usvajanjem fosfora od strane biljaka i njegovom ugradnjom u sastav nukleoproteida i drugih organskih spojeva započinje kruženje fosfora u prirodi koje se nastavlja odumiranjem biljaka nakon čega ponovo ulazi u tlo (Škvorc i sur., 2014). Rezerve fosfora u tlu su približno 50 % organske (Vukadinović i Vukadinović 2011). Fosfor je slabo pokretljiv u tlu, ali u lakim tlima i uz prekomjerne doze može izazvati zagađenje podzemnih voda (Vukadinović i Vukadinović 2011). Podzemnim vodama fosfor lako dospijeva u veće površine pod vodom, kao što su mora, jezera i dr.

Fosfor ne postoji u plinovitom stanju pa zbog toga ne ulazi u atmosferu. On kruži od tla do sedimenata u oceanima i natrag do tla (Briški, 2013). Racionalna gnojidba podrazumijeva količinu mineralnih i organskih gnojiva koja odgovara potrebama biljke, stanju usjeva, plodnosti tla, istodobno uzimajući u obzir klimatske prilike i visinu prinosa. Potrebnu količinu i omjer hraniva koje dodajemo gnojidbom primjerene su biljnoj vrsti i kultivaru, stadiju razvitka biljke te drugim činiteljima agroekološke i klimatske prirode. Primjenom gnojiva izravno

utječemo na količinu raspoloživog fosfora u tlu, ishranjenost biljaka i pridonosimo pogodnim uvjetima ta postizanje visokih i postojanih prinosa odgovarajuće kakvoće, uz očuvanje plodnosti. Iskorištenje fosfora iz mineralnih i organskih gnojiva u prvoj godini nakon gnojidbe često ne prelazi 20%, dok se ostatak transformira u manje pristupačne oblike sukladno svojstvima tla (fizikalno-kemijska i biološka svojstva) i stanu dinamičke ravnoteže u tlu. Taj se fosfor, opet ovisno o svojstvima tla, postupno koristi u sljedećim vegetacijama ponovnim prelaskom u pristupačnije oblike. Niske razine raspoloživosti fosfora u siromašnim tlima zahtjeva gnojidbu usjeva s približno 50-100% većom dozom od količine koju biljka iznosi prinosom. Tla dobro opskrbljena fosforom načelno gnojimo količinom jednakom količini koju biljka iznosi prinosom. Kratkotrajno povećanje učinkovitosti fosfora postiže se njegovom primjenom u trake zbog promjene omjera fosfor-tlo. Isto tako, mikorizne gljive pozitivno utječu na usvajanje fosfora. (Parađiković, 2011)

2. PREGLED LITERATURE

Postoje različite metode za određivanje fosfora u tlu. Popović (2009) u svome doktorskom radu navodi i obrađuje sveukupno 6 različitih ekstrakcijskih metoda za utvrđivanje pristupačnosti fosfora u tlu: Olsen, Morgan, Bray 1, Bray 2, CAL i DL koje uspoređuje sa AL metodom.

Ekstrakcijska metoda po Olsenu ili natrij-bikarbonat metoda pogodna je za neutralna, karbonatna i kalcizirana tla (Popović,2009).

Metoda po Morganu namjenjena je prvenstvo za određivanje sadržaja fosfora u kiselim tlima.

Metoda po Bray-u 1 preporuča se za kisela tla s malim udjelom gline, a kemizam se bazira uglavnom na oslobađanju fosfora iz aluminij fosfata. Metoda po Bray-u 2 nije dobra za neutralna i karbonatna tla jer precjenjuje količinu biljci pristupačnog fosfora (Popović, 2009) .

CAL metoda ili kalcij acetat laktat metoda se koristi kao standrardna metoda za određivanje fosfora na području Autstije i Njemačke. Prema Schulleru (1969) CAL metoda izdvaja samo lako topive fosfate te nije prilagođenja za tla čija pH vrijednost iznosi <6 .

DL metoda ili Egner metoda jedna je od najstarijih metoda. Preporuča se za analizu karbonantnih i neutralnih tala.

Znaor (1996) u svojoj knjizi opisuje kako organske tvari sadrže 20-30 % sveukupnog fosfora u tlu.Vukadinović i sur. (2011) u svojoj knjizi navode kako organske rezerve fosfora u tlu iznose približno 50%.

Kristek (2007) navodi kako mikorize luče tvari koje nepristupačne oblike fosfora, čine biljkama pristupačnim.

ukadinović, Lončarić (1997) u svojoj knjizi navode kako se organski fosfor akumulira u tlu pretežito nakon razgradnje biljnih ostataka. Sadržaj organske frakcije fosfora zavisi od tila tla, a njezino frakcioniranje može se izvesti u kiselinama i lužinama slično mineralnom fosforu tla.

ukadinović i Vukadinović (2011) navode da je organski fosfor u tlu manjim dijelom nukleinske kiseline (35-58%) , fosfolipidi, i heksafosforni ester inozitala fitin (41-49 %).

Vukadinović i Bertić (2013) govore kako se fosforna gnojiva bilo organska bilo mineralna, moraju unijeti dovoljno duboko u tlo.

Tlo je vrlo dinamičan ekosustav i nezamjenjiva prirodna sredina koja omogućuje rast i razvoj biljke.Tlo je također sredina, vrlo jedinstvena, koja sadrži ogromnu populaciju bakterija, gljiva, algi i protozoa. Mikroorganizmi imaju jako bitnu ulogu u funkcioniranju ekosustava tla.Coloman i Crossly (1996) smatraju da je 80-90% procesa u tlu pod utjecajem mikroorganizama.Mikorize luče tvari koje nepristupačne oblike hraniva čine pristupačnim (među njima je vrlo bitan fosfor).

Valja napomenuti i bakterije koje pomažu pri usvajanju fosfora, a te bakterije su : *Bacillius Spp.* i *Pseudomonas Spp.* koje povećavaju topivost anorganskih oblika fosfora oko aktivne zone korijena. Mobiliziraju fosfor i poboljšavaju vigor biljke i prinos za 15-20 % . Vrlo su učinkovite kada se primjenjuju sa *rhizobium* bakterijama (Kristek, 2007) .

Pojam humus seže još u doba Rimljana, tada se definirao kao da je to tlo u cjelini. Kasnije se definiralo za sve organske tvari tla i kompost ili različite frakcije organske tvari.

Wallerius prvi definira humus 1961 u odnosu na razgrađene organske tvari.

De Saussuer u svome poznatom djelu „Recherches Chimiques Sur La Vegetation“ posvećuje znatnu pozornost na humus. Otkrio je da to nije homogena tvar, ali da se sastoji od različitih kompleksa koji se mogu lako ukloniti.

Liebig je govorio o humusu kao lakoj smeđoj supstanci koja je lako topljiva u lužinama i slabo topljiv u vodi, i proizvedena tijekom razgradnje biljnih materijala.

Waksman definira humus kao složeni „agregat“ smeđe do tamnom smeđe boje, koji je nastao tijekom razgradnje biljnih i životinjskih ostatak, mikroorganizmi, u aerobnim i anaerobnim uvjetima, obično u tlu.

U analizama tla pored određivanje pH sadržaj humusa je također bitno odrediti i sadržaj humusa. Sadržaj humusa u tlu je bitan čimbenik za dobar rast i razvoj biljke. Neke biljke imaju povećane zahtjeve za sadržajem organske tvari u tlu, dok su neke biljke osjetljive na suvišak organske tvari. Prema sadržaju humusa u tlu određuje se potreba za gnojidbom organskim gonijivima ili provođenjem zelene gnojidbe. Sadržaj huusa omogućuje bolju mikrobiološku aktivnost u tlu, njegovu bolju strukturu te vodozračne odnose. (Stojić B. 2012).

Humus primarno sadrži ugljik, ali također i dušik i manje količine fosfora i drugih lemenata.

Vukadinović (2009) navodi kako je značajna uloga humusa u povećanju efikasnosti fosfone gnojidbe i raspoloživosti mikroelemenata na kiselim tlima, pa je humus naročito važan u opskrbi biljaka fosforom, kalcijem i željezom.

Humus sadrži od 0,4% do 0,6 % fosfora.

Organski fosfor u tlu može se podijeliti u dvije frakcije: jedna kao dio humusa zajedno s ugljikom, dušikom i sumporom i druga nezavisna frakcija organskog fosfora kao dio spojeva visoke molekularne mase*(Borie i Rubio, 2003.)*.

U većini tala kako su istakli *Borie i Rubio (2003.)* organski fosor tla predstavlja više od 50 % ukupnog fosfora većinom u obliku inosiltol penta i heksa fosfata vezane sa željezom i aluminijem. Autori navode da je od krucijalnog značaja aktivnost enzima fosfoataze u tlu jer većina biljaka može usvojiti fosfor isključivo u anorganskom obliku.

Organski fosfor iz tla lako se može premjestiti u vode te pridonjeti naglom obogaćivanju vode nutrijentima što rezultira povećanom produkcijom akvatičnih biljaka *(Turner et al., 2005.)*.

Najčešće korištene metode za ekstrakciju organskog fosfora prema *Kuo (1996.)* su metode žarenja ili ekstrakcije pomoću koncentrirane kloridne kiseline, koncentrirane sulfatne kiseline ili acetilacetona kao glavnih ekstraktanata, jer jake kiseline otapaju željezo i aluminijeve okside i premještaju aluminij i željezo te ostale polivalentne katione, što rezultira taloženjem organskog fosfora.

EUF kao tehnika utvđivanja biljkama pristupačnog fosfora pokazala se kao odlična za utvrđivanje organskog fosfora u tlu te daje preciznije informacije o količini biljci pristupačnog fosfora *(Ziadi et al, 2001.)*.

Unošenje stajnjaka u tlo bez mineralne gnojidbe smanjuje biljci pristupačan fosfor u odnosu na mineralnu gnojidbu fosforom jer se jer se dio fosfora veže s organskom tvari tla (*Vetterlein et al., 1999.).*

Brasci et al., (2003.) zaključuju kako unošenje organske tvari u karbonatnim tlima, s velikom količinom zamjenivog kalcija, bitno smanjuje taloženje netopivih formi Ca fosfata.

Scherer i Sharma (2002.) također su naveli kako je primjena stajskog gnoja u odnosu na mineralnu gnojidbu rezultirala nižim kapacitetom tla za adsorpciju fosfora.

2.1.Cilj istraživanja

Cilj rada bio utvrditi razlike između metode za određivanje organskog fosfora u tlu bez uključivanja mikrobiološke aktivnosti i s mikrobiološkom aktivnosti tj. usporediti dvije metode KUO žarenjem te metodom s NaOH u tri ekstrakcije.

Isto tako između istraživanih metoda određena je njihova međuovisnost.

3. MATERIJAL I METODE

3.1. Laboratorijska istraživanja

Na uzorcima tala uzetih s ratarskih površina na dubini od 0-30 cm provedene su laboratorijske analize osnovnih kemijskih svojstava tla: pH tla (ISO 10390, 1994.), sadržaj humusa u tlu bikromatnom metodom (ISO 14235, 1994.), koncentracija AL-pristupačnog fosfora (Egner et al., 1960.), te analize dopunskih svojstava tla: određivanje sadržaja karbonata u tlu (ISO 10693, 1995.). Za određivanje ukupnog organskog fosfora korištene su dvije metode:

- metoda žarenjem uzoraka tla (Kuo, 1996),

- metoda s NaOH u tri ekstrakcije

Prosječni uzorci tla za osnovni set uzimani su s različitih rataskih površina kontinentalnog dijela Hrvatske. Svaki uzorak težio je 0,5-1 kg, sačinjen od 20-25 dobro izmješanih pojedinačnih uzoraka ravnomjerno uzetih s proizvodne površine. Raspored uzimanja pojedinačnih uzoraka bio je dijagonalan uz ravnomjerne razmake, do dubine oraničnog sloja tla (0-30 cm). Ukupno je analizirano 30 uzoraka tla.

3.1.1. Osnovne kemijske analize uzoraka tla

3.1.1.1. pH reakcija

Reakcija tla, izražena kao pH vrijednost, pokazatelj je niza agrokemijskih svojstava tla važnih za ishranu bilja. Jedinica pH vrijednosti predstavlja negativan logaritam aktiviteta H^+ te kao jedno od temeljnih svojstava tla kontrolira kemijska, biološka i fizikalna svojstva tla *(Vukadinović, i Lončarić, 1998.)*.

pH vrijednost uzoraka tla određena je pH-metrom, dakle elektrometrijski (ISO 10390, 1994.) u suspenziji tla u omjeru 1:10 (w/v) s destiliranom vodom (aktualna kiselost) i u 1 $moldm^{-3}$ KCl (supstitucijska kiselost) na pH metru Iskra MA 5730.

3.1.1.2.Određivanje sadržaja organske tvari (humusa)

Humus u tlu utječe na vrlo značajna kemijska i fizikalna svojstva tla, kao što su struktura, kapacitet za vodu, sorpcija iona, sadržaj neophodnih elemenata itd. Sadržaj humusa u tlu određen je bikromatnom metodom *(ISO 14235, 1994.)* koja predstavlja mokro spaljivanje organske tvari tla kalijevim bikromatom. Koncentracija organskog ugljika u uzorcima određena je spektrofotometrijski *(Vukadinović i Bertić, 1989.)* na spektrofotometru Varian Cary 50, a zatim je preračunata na sadržaj humusa koeficijentom 1,724.

3.1.1.3.Određivanje biljci pristpačnog fosfora AL-P_2O_5

Lakopristupačni fosfor i kalij u tlu određeni su prema Egner-Riehm-Domingu AL metodom *(Egner et al., 1960.*) ekstrakcijom tla s amonij laktatom. Fosfor određen prema AL metodi odnosi se na frakciju topivu u vodi, te u slabim kiselinama koja je najznačajnija za ishranu bilja. Nakon estrakcije fosfora iz uzorka tla Al otopinom, koncentracija fosfora u ekstraktu određena je plavom metodom na sljedeći način:

Od bistrog filtrata tla odpipetirano je 10 ml u odmjernu tikvicu od 100 ml, dodano 9 ml 4 moldm^{-3} H_2SO_4 (213,2 ml konc. H_2SO_4 /1000 ml) i dopunjeno destiliranom vodom do pola tikvice. Tikvice se zatim zagrijavaju na vodenoj kupelji, doda se 10 ml 1,44 % amonij molibdata (1,44 g/100 ml) i 2 ml 2,5 % askorbinske kiseline (2,5 g/100 ml). Tikvice se drže još pola sata na vodenoj kupelji radi razvijanja komleksa plave boje. Paralelno je proveden isti postupak tijekom pripreme serije standardnih otopina, ali je umjesto filtrata u odmjerne tikvice pipetirano po 10 ml svakog radnog standarda. Tako priređeni standardi odgovaraju količini od 0,100, 200, 300, 400, 500 i 800 mg P_2O_5 kg^{-1} tla. Ohlađene tikvice nadopunjene su do oznake destiliranom vodom. Serija standarda i uzorci mjereni su spekrtofotometrijom na 680 nm pri čemu su standardi korišteni za kalibraciju spektrofotometra koji pomoću softwera WinLAB izračunava količinu fosfora u filtratima uzoraka tla, a izražava se u mg P_2O_5 kg^{-1}.

3.1.1.4. Određivanje karbonata u tlu

Sadržaj karbonata u tlu određen je volumetrijskom metodom *(ISO 10693, 1995.)* mjerenjem volumena CO_2 koji se iz karbonata tla razvija djelovanjem 10 % HCl (klorovodične kiseline).

3.1.2.Određivanje labilnog organskog fosfora

Ekstrakcija s $NaHCO_3$

Odvagati 0,5 g zrako-osušenog tla te ga navlaženog do PVK (0,4 ml vode na 1g tla) staviti u kivete za centrifugu od 100 ml. U svaku kivetu dodati 50 ml 0,5 M $NaHCO_3$, položiti kivete vodoravno i staviti na treskalicu 16 sati. Potrebno je na isti način pripremiti i kivetu bez tla (nulu). Nakon treskanja uzorke je potrebno centrifugirati na 7000 okretaja, 15 minuta te filtrirati kroz filter papir Whatman No. 41 u tikvice od 50 ml. Tikvice zatim treba nadopuniti do oznake.

Kao bi odredili labilni fosfor **(P_i)** potrebno je prenjeti alikvot koji u sebi sadrži 2-40 μg P u tikvice od 50 ml i dodati 5 kapi p-nitrofenola te namjestiti pH s 2 M HCl(oko 4-5 ml)dok se tamno žuta boja indikatora obezboji. Dodati oko 40 ml destilirane vode te 8 ml REAGENSA B, nadopuniti tikvice do oznake i dobro promućkati. Nakon 20 min odrediti koncentraciju fosfora na spektrofotometru na 880 nm. Isti postupak je i za pripremljenu nulu.

Za određivanje ukupnog labilnog fosfora (**P)** u ekstraktu potrebno je u kivetu za razaranje na bloku dodati 0,5 g Kalijevog persulfata te odgovarajući alikvot (najčešće 10 ml) ekstrakta (početnog iz tikvica od 50 ml) i 6 ml 2,5 M sulfatne kiseline. Uzorke je potrebno digestirati na 160 ^{0}C 30 min (dok se uzorci ne prestanu pjeniti). Nakon hlađenja uzorke kvantitativno prenijeti u tikvice od 50 ml, dodati 5 kapi p-nitrofenola i namjestiti pH s 5 M NaOH (do pojave trajne žute boje). Zatim dodati oko 10 ml destilirane vode, 8 ml REAGENSA B i nadopuniti tikvice do oznake i dobro promućkati. Nakon 20 min mjeriti koncentraciju fosfora na spektrofotometru na 880 nm.

Razlika između ukupnog labilnog fosfora(P) i labilnog mineralnog fosfora(P_i) rezultira labilnim organskim fosforom (P_o): **P_o=P-P_i**

3.1.3.Određivanje srednje labilnog (stabilni) organskog fosfora

Postupak se odvija u dva koraka.

Ekstrakcija s HCl

Na ostatak tla u kiveti od predhodne analize dodati 50 ml 1 M HCl i staviti na treskalicu 3 sata. Dio 1 M HCl (od 50 ml) potrebno je koristiti za ispiranje filter papira od predhodne ekstrakcije. Nakon 3 sata uzorke je potrebno centrifugirati na 7000 okretaja 15 min i filtrirati kroz Whatman papir u tikvice od 50 ml. Tikvice nadopunit destiliranom vodom i dobro promućkati.

Postupak određivanja srednje labilnog mineralnog fosfora (Pi) i ukupnog srednje labilnog fosfora (P) je isti kao i postupak za određivanje za labilnog fosfora.

Srednje labilni organski fosfor dobije se kao rezultat razlike ukupnog srednje labilnog fosfora i srednje labilnog mineralnog fosfora: $\mathbf{P_O=P-P_i}$

Ekstrakcija s NaOH

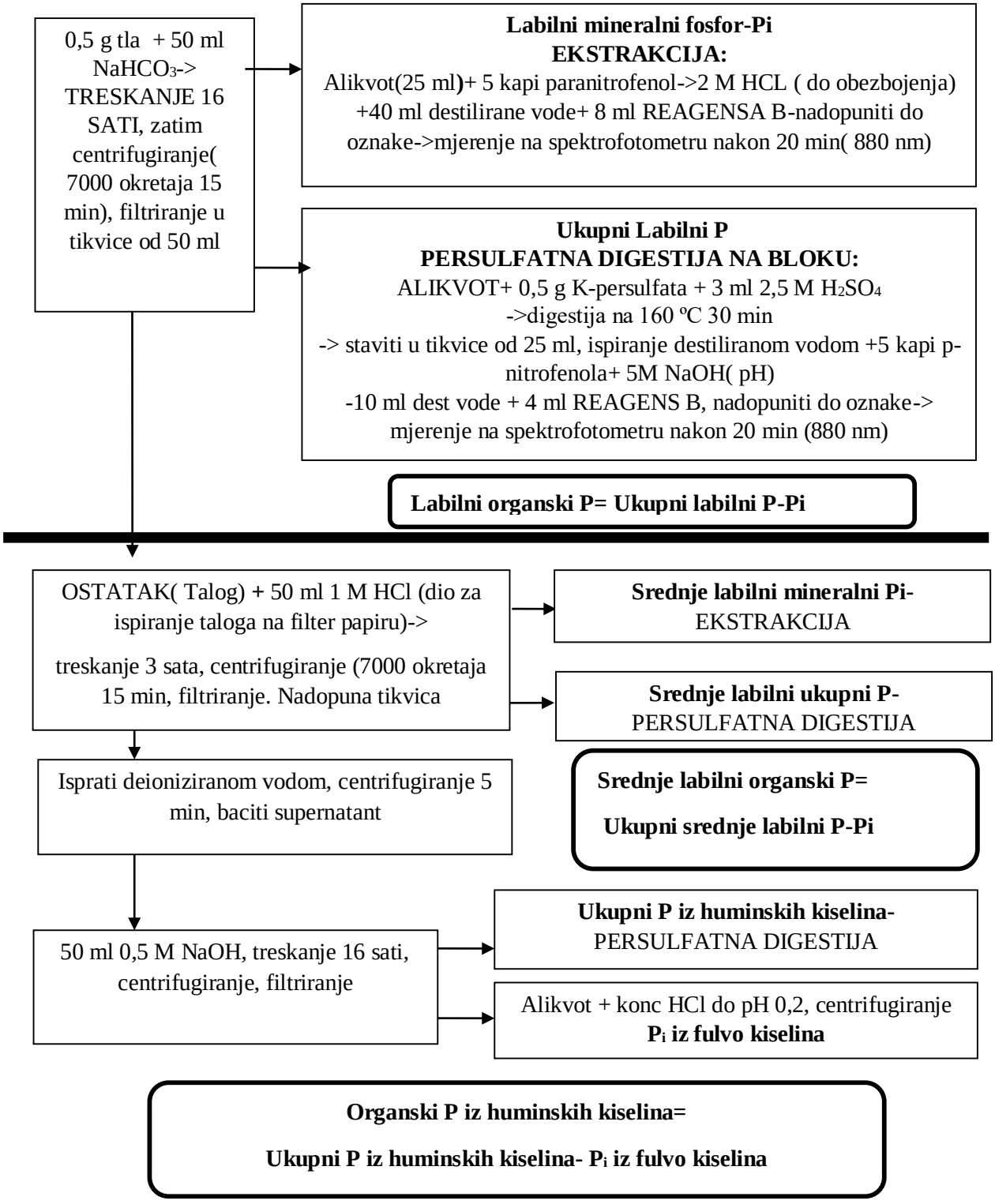
Kako bi odredili još jednu frakciju srednje labilnog fosfora (iz fulvo kiselina) potrebno je ostatak tla u kiveti za cenrifugiranje isprati destliranom vodom, centrifugirati 5 minuta i baciti supernatant.

Zatim u kivete treba dodati 50 ml 0,5 M NaOH i staviti na treskanje 16 sati. Nakon treskanja uzorke centrifugirati na 7000 okretaja 15 min. Ovakav supernatant sadrži dvije frakcije fosfora: manje stabilni iz fulvo kiselina, te stabilni iz huminskih kiselina. Kako bi odvojili te frakcije potredno je dio alikvota odvojiti (nakon filtriranja u tikvice od 50 ml kao i u svim ostalim postupcima), prebaciti u kivete za centrifugu te ekstrakt zakiseliti s koncentriranom HCl do pH 0,2. Naime, pri toj pH vrijednosti, huminske kiseline se talože, a fulvo kiseline ostaju u otopini. Zakiseljene uzorke potrebno je centrifugirati na 7000 okretaja 15 min i filtrirati u tikvice od 50 ml. Po već prethodno spomenutom postupku, potrebno je odrediti ukupni srednje labilni fosfor (P) i srednje labilni mineralni fosfor (P_i). Organski fosfor iz humiskih kiselina dobiven je kao rezultat razlike ukupnog fosfora iz huminskih kiselina te fosfora iz fulvo kiselina..

IZRAČUN KONCENTRACIJE FOSFORA IZ SVAKE FRAKCIJE

Koncentracija fosfora dobivena pojedinom frakcijom računa se formulom:

P(mg/kg)= koncentracija P(mg/l) x (volumen ekstraktanta (l)/masa tla (kg)



Shema 1. Shematski prikaz postupka određivanja koncentracije organksog fosfora u tlu

3.1.4. Određivanje ukupnog organskog fosfora metodom po Kuo

Ukupni organski fosfor određuje se žarenjem uzoraka tla (Kuo, 1996.). Metoda se temelji na postupku žarenja koji organski fosfor prevodi u anorganski oblik, te se zatim određuje ukupna količina organskog fosfora usporedbom utvrđene količine anorgaskog fosfora u uzorku sa ili bez predhodnog žarenja. Koncentracija ukupnog fosfora u oba uzorka (sa ili bez žarenja) izračunava se po jednadžbi:

ukupni P (mg kg^{-1})= P konc (µg ml^{-1}) x 50/g

g= odvaga tla

organski P= ukupni $P_{žarenje}$ – ukupni $P_{bez\ žarenja}$

Prema originalnoj metodi, uzorke prelivene ekstrakcijskom otopinom (0,5 $moldm^{-3}$ H_2SO_4), potrebno je mućkati na rotacijskoj mućkalici 16 sati, što predstavlja praktični problem, pa je metoda modificirana *(Turner et al, 2003.)*. Razlika je što se kao ekstrakcijsko sredsvo koristi 1 $moldm^{-3}$ H_2SO_4 i uzorci se mućkaju 2 sata. Postupak je sljedeći: 2 g zrakosuhog tla odvagano je u porculansku posudicu za žarenje i preneseno u peć za žarenje 1 sat na 550˚ C. Nakon toga uzorak se prenosi u bočicu za izmućkavanje volumena 100 ml. U drugu posudicu za izmućkavanje paralelno je odvagano 2 g istog uzorka tla ali bez predhodnog žarenja. Uzorci su preliveni s 50 ml 1 $moldm^{-3}$ H_2SO_4, mućkani 2 sata na rotacijskoj mućkalici, te cetrifugirani 10 min na 4-5 tisuća okretaja da se dobije bistar supernatant. U odmjernu tikvicu od 50 ml odpipetirano je 2 ml supernatanta i određena je koncentracija fosfora plavom metodom, a ukupni organski fosfor preračunati prema navedenoj formuli, te preračunat u mg P_2O_5 kg^{-1}.

3.2. Statistička obrada podataka

Rezultati analiza uzoraka tla statistički su obrađeni PC aplikacijama SAS for Windows (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA), StatSoft Statistica i Excel za utvrđivanje analize varijance (ANOVA), korelacija i multiregresijskih ovisnosti.

4. REZULTATI

4.1. Rezultati osnovne analize tla

Iako je ukupno analizirano 30 uzoraka tla zbog kompleksnosti privedenih metoda i heterogenosti rezultata rezultati su svedeni na 10 uzoraka. Na taj način smanjena je heterogenost te je omogućeno lakše praćenje i tumačenje rezultatata. Usporedba rezultata analize tla ukazuje na razlike u pH vrijednosti tla, koncentraciji AL-P_2O_5, koncentraciji AL-K_2O i humoznosti tla (tablica 1).

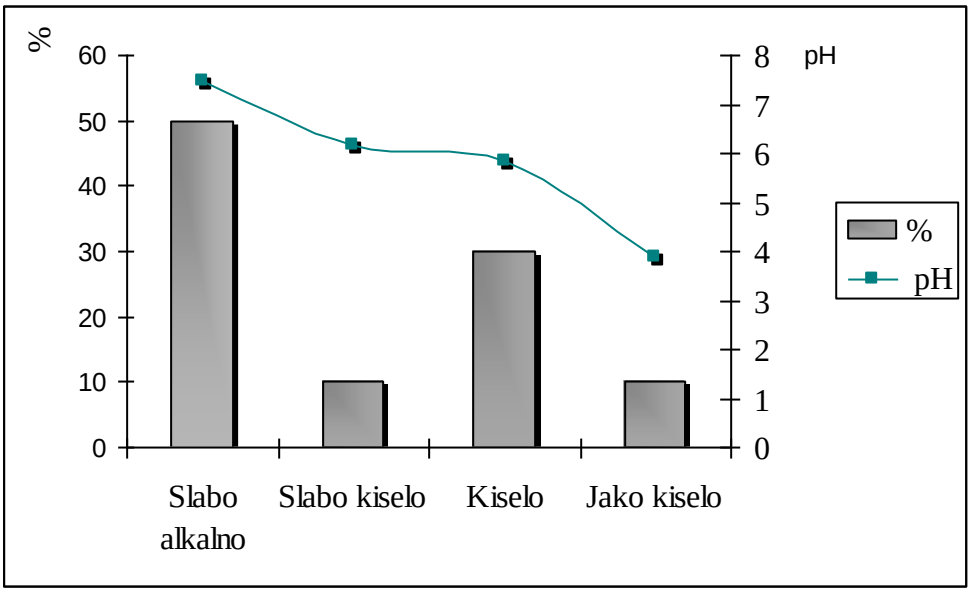
Tablica 1. Rezultati osnovne analize tla ispitivanih uzoraka

Broj uzorka	**Kiselost tla**		**Koncentracija m/100 g**		**Sadržaj humusa %**
	pH (H_2O)	**pH (KCl)**	**AL-P_2O_5**	**AL-K_2O**	
1	8,18	7,52	8,05	22,17	2,93
2	8,22	7,49	12,36	21,73	2,99
3	8,31	7,52	14,51	20,29	2,75
4	8,32	7,45	20,71	20,35	2,19
5	8,28	7,42	35,47	21,86	2,57
6	6,62	5,70	95,42	45,43	3,30
7	7,39	6,18	24,46	16,62	2,34
8	6,69	5,92	29,34	36,81	2,83
9	6,80	5,86	32,11	27,54	2,45
10	5,10	3,88	23,33	24,87	2,17

Rezultati aktualne kiselosti kretali su se u rasponu od pH (H_2O) 5,10 do pH (H_2O) 8,32 i supstitucijske kiselosti od pH (KCl) 3,88 do pH (KCl) 7,52 što ukazuje na raspon od slabo kisele do slabo alkalne reakcije tala na ispitivanim uzorcima. Nadalje, rezultati koncentracije fosfora prema AL-metodi kretali su se u kiselim tlima u rasponu od 23,33 do 95,42 mg P_2O_5/100 g tla, odnosno od klase vrlo niske do klase vrlo visoke opskrbljenosti tala fosforom.U alkalnim tlima koncentracije fosfora bile su niže te su se kretale u rasponu od 8,05 do 35,47 mg P_2O_5/100 g tla. Koncentracije kalija prema AL-metodi kretale su se u rasponu od 16,62 do 36,81 mg K_2O/100 g tla, odnosno od klase dobro opskrbljenih do klase visoke opskrbljenost tala kalijem. Sadržaj humusa u kiselim tlima iznosio je od 2,17 do 3,30 %, odnosno od 2,19 do 2,99 % u

alkalnim tlima. U svim ispitivanim uzorcima, postotak humusu se nalazio u razini osrednje humoznih tala

4.1.1. Klasifikacija kiselosti tla

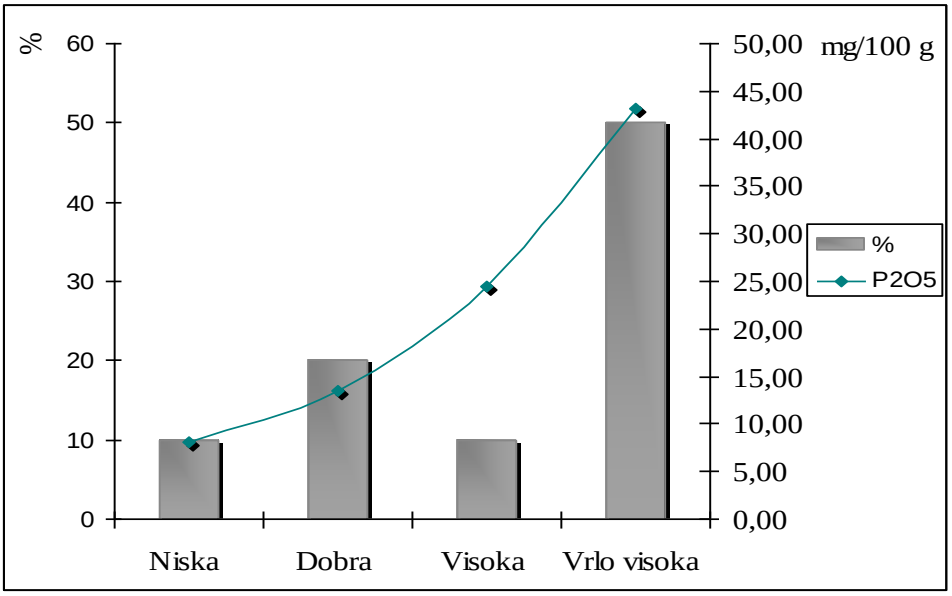


Grafikon 1. Klase kiselosti tla

Prema klasifikaciji kiselosti, klasa slabo alkalnih tala je dominantna i zauzima 50% analiziranih uzoraka uz prosječnu vrijednost pH (KCl) 7,47. Nadalje, klasa kiselih tala čini 30 % analiziranih uzoraka, pri čemu prosječna vrijednost iznosi pH (KCl) 5,83. Klasa slabo kiselih tala uz prosječnu vrijednost pH (KCl) 6,18, te klasa jako kiselih tala sa prosječnom vrijednosti pH (KCl) 3,88 zauzimaju jednaki postotak; po 10% analiziranih uzoraka (grafikon 1).

Usporedbom koncentracija fosfora i kalija prema AL-metodi obzirom na reakciju tla, najveće koncentracije oba elementa utvrđene su za kisela tla a prema redoslijedu koncentracija slijede slabo kisela tla kod fosfora, te jako kisela tla kod kalija. Najniža koncentracija fosfora utvrđena je na tlima najviše pH vrijednosti, a riječ je o slabo alkalnim tlima. Najniže koncentracije kalija utvrđene su za klase slabo kiselih tala u odnosu na ostale klase tala. Najveći sadržaj humusa u ispitivanim uzorcima utvrđen je za klasu slabo kiselih tala, zatim za klasu slabo alkalnih tala, a najniži sadržaj je zabilježen za klasu jako kiselih tala. Pri tome se sadržaj humusa između svih klasa kiselosti tla vrlo malo razlikovao (tablica1).

4.1.2. Klasifikacija opskrbljenosti tla fosforom



Grafikon 2. Klase opskrbljenosti tla fosforom prema AL-metodi

U pogledu klasifikacije opskrbljenosti tla fosforom, glavni interferirajući faktor je pH reakcija tla, te kiselost tla ima značajan utjecaj na klasifikaciju. U ispitivanim uzorcima najzastupljenija klasa tala je klasa vrlo visoke opskrbljenosti fosforom s udjelom od 50 % analiziranih tala i prosječnom koncentracijom 43,13 mg P_2O_5/100 g. Nadalje, udjel dobro opskrbljenih tala fosforom iznosi 20 % analiziranih tala s prosječnom koncentracijom 13,44 mg P_2O_5/100 g. Najmanje zastupljene klase podjednakim udjelom od 10% zauzimaju klasa niske opskrbljenosti tla fosforom s prosječnom koncentracijom 8,05 mg P_2O_5/100 g te klasa visoke opskrbljenosti tla fosforom s prosječnom koncentracijom 24,46 mg P_2O_5/100 g (grafikon 2).

4.2.Rezultati analize organskog fosfora metodom s NaOH u tri ekstrakcije

Orgasnki fosfor u tlu određivao se tijekom tri ekstrakcije (tablica 4) kako bi se utvrdila koncentracija labilnog organskog fosfora, te fosfora iz fulvo i huminskih kiselina. Na taj dobivene su tri frakcije fosfora:

1. Mineralni fosfor dobiven ekstrakcijom (labilni, srednje labilni, iz huminskih kiselina)
2. Ukupni fosfor dobiven digestijom (labilni, srednje labilni, fosfor iz huminskih kiselina)
3. Organski fosfor (labilni, srednje labilni, fosfor iz huminskih kiselina)

Raspon utvrđenih vrijednosti kod prve ekstrakcije s NaHCO3 (labilni fosfor) kretao se od 52,050 do 652,00 mg/kg za mineralni fosfor (Pi) s prosjekom od 262,55 mg/kg. Ukupni fosfor (P) kod prve ekstrakcije kretao se od 130,00 do 602, 00 mg/kg s prosjekom od 305,95 mg/kg. Organski fosfor imao je najniže vrijednosti od 0,00 do 194,50 mg/kg s prosjekom od 67,60 mg/kg. Kako koncentracija organskog fosfora, zapravo predstavlja razliku između utvrđene koncentracije ukupne i mineralne frakcije fosfora kod pojedinih uzoraka u prvoj ekstrakciji ova frakcija nije utvrđena (tablica 4).

Druga ekstrakcija s HCl (srednje labilni) imala je prosječno više vrijednosti mineralnog (856,55 mg/kg) i ukupnog fosfora (864,75 mg/kg) dok je frakcija organskog fosfora u drugom stupnju ekstrakcije bila daleko najniža (26,05 mg/kg) (tablica 4).

Treća ekstrakcija s NaOH (stabilni, vezani fosfor) imala je najveće utvrđene vrijednosti organskog fosfora i kretale su se u rasponu od 278,50 mg/kg do 579,50 mg/kg s prosjekom od 370,85 mg/kg (tablica 4). On zapravo predstavlja organsku frakciju tla dobivenu dugotrajnim postupkom centrifugiranja i ekstrahiranja, tj organski fosfor iz huminskih kiselina.

Tablica 2. Rezultati ispitivanja organskog fosfora pomoću 3 ekstrakcije

$NaHCO_3$EKSTRAKCIJA			
BROJ UZORKA	**Pi (mg/kg)[1]**	**P (mg/kg)[2]**	**Po (mg/kg)[3]**
1	52,50	176,25	123,75
2	63,25	174,50	111,25
3	86,50	214,50	128,00
4	126,00	320,50	194,50
5	265,00	130,00	0,00
6	652,00	602,00	0,00
7	311,50	371,25	59,75
8	362,75	307,25	0,50
9	405,25	458,25	53,00
10	299,75	305,00	5,25
Prosjek	**262,45**	**305,95**	**67,60**
HCl EKSTRAKCIJA			
UZORAK	**Pi (mg/kg)**	**P (mg/kg)**	**Po (mg/kg)**
1	531,75	574,00	42,25
2	630,00	646,00	16,00
3	619,00	679,00	60,00
4	702,75	757,00	54,25
5	773,25	833,25	60,00
6	1498,00	1514,00	16,00
7	904,00	812,50	0,00
8	979,75	892,75	0,00
9	853,00	854,75	1,75
10	1074,00	1084,25	10,25
Prosjek	**856,55**	**864,75**	**26,05**
NaOH EKSTRAKCIJA			
UZORAK	**Pi (mg/kg)**	**P (mg/kg)**	**Po (mg/kg)**
1	138,50	439,25	300,75
2	170,00	521,75	351,75
3	182,25	529,00	346,75
4	162,75	497,75	335,00
5	335,00	613,50	278,50
6	187,00	766,50	579,50
7	200,00	645,50	445,50
8	375,00	695,75	320,75
9	163,75	511,00	347,25
10	215,50	618,25	402,75
Prosjek	**212,975**	**583,825**	**370,85**

[1]Mineralni fosfor dobiven ekstrakcijom (labilni, srednje labilni, iz huminskih kiselina) [2]Ukupni fosfor dobiven digestijom (labilni, srednje labilni, fosfor iz huminskih kiselina) [3]Organski fosfor (labilni, srednje labilni, fosfor iz huminskih kiselina)

4.3. Rezultati analize organskog fosfora Kuo metodom

Metoda se temelji na postupku žarenja koji organski fosfor prevodi u anorganski oblik, te se zatim određuje ukupna količina organskog fosfora usporedbom utvrđene količine anorgaskog fosfora u uzorku sa ili bez predhodnog žarenja.

Tablica 3. Rezultati organskog fosfora Kuo metodom

BROJ UZORKA	organski P (mg/kg)
1	220,76
2	203,87
3	195,91
4	185,43
5	196,42
6	228,26
7	242,17
8	238,68
9	216,52
10	215,09
Prosjek	**214,31**

Rezultati organskog fosfora dobiveni Kuo metodom kretali su se od 185,43 mg/kg do 242,17 mg/kg s prosjekom od 214,31 mg/kg. Ovi rezultati bili su najsličniji rezultatima treće ekstrakcije u metodi s NaOH.

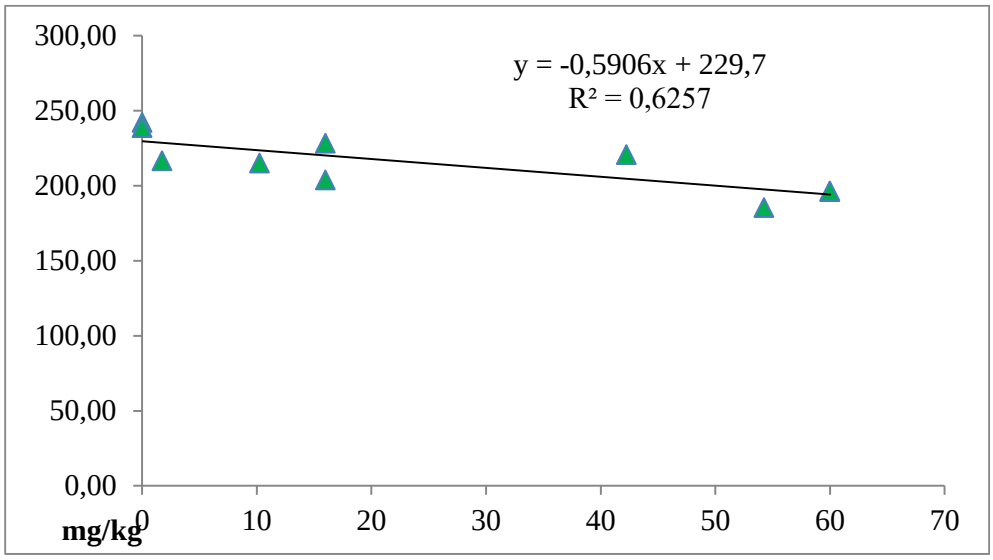
4.4. Statistička obrada podataka

Temeljem dobivenih podataka načinjene su korelacije ispitivanih metoda kako bi se ustanovila njihova usporedivost.

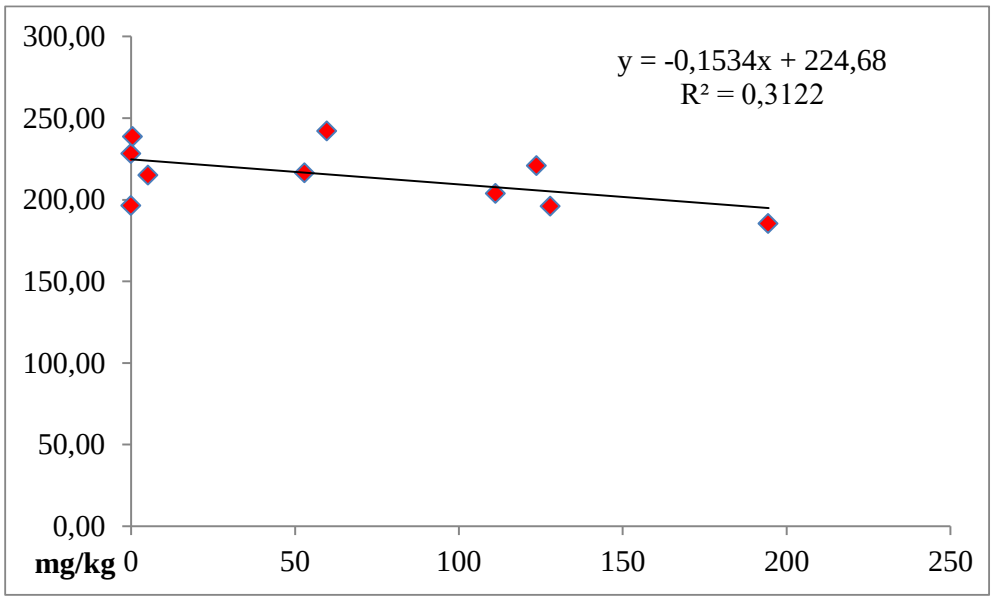
Svaka ekstrakcija uspoređena je s rezultatima organskog fosfora utvrđenog po Kuo metodi te su utvrđene sljedeće korelacije:

- između prve ekstrakcije s $NaHCO_3$ i Kuo metode utvrđena je korelacija od r= 0,56* i bila je statistički značajna

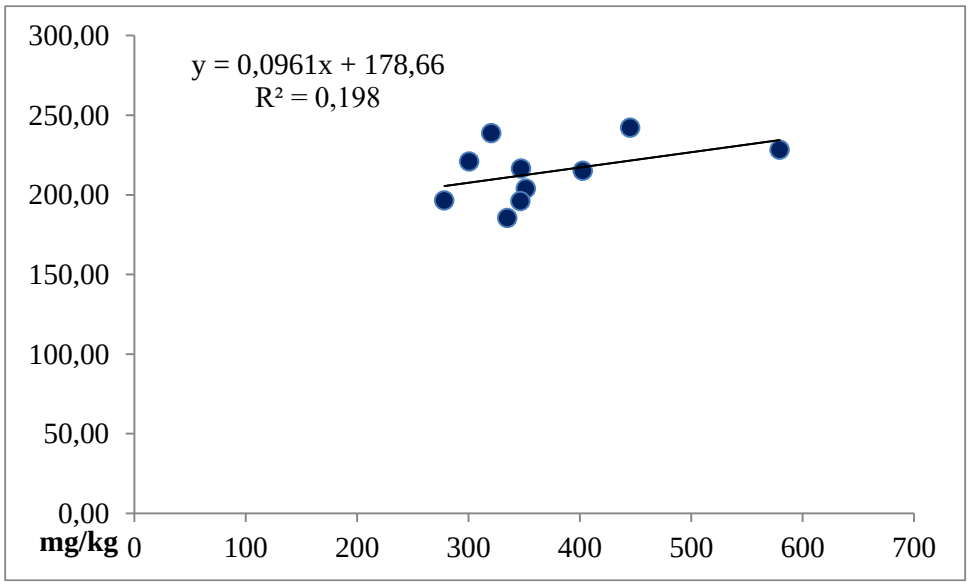
- između druge ekstrakcije s HCl i Kuo metode utvrđena je korelacija od r= 0,79 ** i bila je statistički vrlo značajna
- između treće ekstrakcije s NaOH i Kuo metode utvrđena je korelcija od r= 0,44 i nije bila statsistički značajna (grafikoni 3-5)



Grafikon 3. Korelacija između prve ekstrakcije s $NaHCO_3$ i Kuo metode



Grafikon 4. Korelacija između druge ekstrakcije s HCl i Kuo metode



Grafikon 5. Korelacija između treće ekstrakcije s NaOH i Kuo metode

5. RASPRAVA

5.1. Osnovna svojstva tla

Količina biljci pristupačnog fosfora usko je povazana s kemijskim osobinama tla, a pri tome reakcija tla utječe na forme fosfora u tlu te na njegovu pristupačnost, te istovremeno ima i velik utjecaj na efikasnost gnojidbe. Naime, kako navodi Benton (2001.), odnos pojedinih frakcija anorganskog fosfora u tlu ovisi prvenstveno o pH rekciji tla, pa su u kiselim tlima (naročito kod pHKCl < 5,5) dominantni ioni željeza i aluminija koji lako stupaju u kemijske reakcije s ionima fosfata u tlu i na taj ga način kemijski vežu u Al-fosfate i Fe-fosfate koji su, generalno, teško pritupačni biljci. Kada je reakcija tla iznad pH 7,3, topive forme fosfata naglo se smanjuju zbog njegovog vezivanja s ionima kalcija u tlu i tvorbe Ca-fosfata (Benzing i Richardson, 2005.).

Mada je u istraživanju zbog kompleksnosti i skupoće analize bilo obuhvaćeno svega 10 uzoraka pH vrijednost obuvatila je skupine tala od jako kiselih do slabo alkalnih. Isto tako, u pogledu koncentracije biljci prstupačnog fosfora utvrđena je heterogenost rezultata te su se uzorci kretali od klase siromašnih do klase jako bogatih pristupačnim fosforam. Koncentracija kalija bila je ujednačenija od klase dobro opskrbljeno do klase jako bogato opskrbljenih.

Humus u tlu utječe na vrlo značajna kemijska i fizikalna svojstva kao što su struktura, kapacitet za vodu, sorpcija iona te sadržaj neophodnih elemenata. Gledano s aspekta pristupačnosti fosfora u tlu, veća količina organske tvari u tlu povezana je s većom pristupačnosti fosfora u tlu. Isto tako, Al-Jaloud et al. (1998.) ističu kako je koncentracija fosfora u tlu usko povezana s količinom organske tvari tla, posebice u aridnom klimatu. Isti autori došli su do zaključka kako je velika razlika između ukupnog i biljci pristupačnog fosfora u karbonatnim tlima, te da unošenje svježe organske tvari u tlo povećava biljci pristupačni fosfor. Prema utvrđenim minimalnim i maksimalnim vrijednostima koncentracije humusa, istraživani uzorci tla svrstani su u samo jednu kategoriju prema Gračaninu, slabo humozna tla (1-3 % humusa) gdje je kompletan broj uzoraka utvrđen u grupi s iznad 2 % humusa. Ovakvi rezultati suprotni su postojećim podacima o trendu smanivanja količine humusa u oraničnom sloju tla kontinentalnog dijela Republike Hrvatske zbog intenzivne poljoprivredne proizvodnje. Naime, rezultati istraživanja različitih autora pokazuju kako je u Republici Hrvatskoj velika zastupljenost tala s prosječnom količinom humusa oko 2%, a na takvo stanje prije svega utječe suvremena poljoprivredna proizvodnja i nedovoljno unošenje organske tvari u tlo. Međutim odabir ogranske tvari tla kao jedne od osnovnih komponenti ovog istraživanja krije se u pretpostavci povezanosti organske tvar tla s organskim fosforom, te su stoga birani uzorci s većim sadržajem organske tvari.

Pojedini autori utvrđuju da kod tala s nižim sadržajem fosfora i visokim sadržajem humusa može izostati reakcija biljke na preporučene doze gnojiva, što tumače pretpostavkom da je količina biljci pristupačnog fosfora viša nego što pokazuju rezultati laboratorijske analize (Kovačević, 1992).

Istraživanja provedena u ovom radu nisu u potpunosti potvrdila ovu pretpostavku, odnosno nije utvrđena korelacija između humusa i količine organskog fosfora u tlu, ali je količina humusa uvelike utjecala na međusobni odnos ukupnog, organskog i anorganskog fosfora u tlu. Isto tako razvijeni modeli predviđanja AL fosfora na temelju ukupnog i organskog fosfora u tlu bili su pod velikim utjecajem količine humusa u tlu. Uključivanje količine humusa u tlu u regresijsku jednadžbu rezultiralo je povećanjem koeficijenta korelacije i smanjenjem odstupanja modela. Tako je uključivanjem podataka o količini humusa u tlu kod modela proračuna AL fosfora na temelju organskog i ukupnog fosfora koeficijent korelacije porastao s r = 0,43 na r = 0,89, a odstupanje modela smanjeno je za 66,8 %.

U Hrvatskoj se AL metoda koristi za ekstrakciju fosfora i na kiselim i na karbonatnim tlima, a rezultati analiza služe za izradu gnojidbenih preporuka za ratarske usjeve i trajne nasade (Lončarić et al., 2003., Vukadinović et al.,1996.).

Kategorije opskrbljenosti tala fosforom najčešće se definiraju s aspekta kiselosti tla s obzirom da je raspoloživost fosfora u tlu u velikoj mjeri određena pH reakcijom tla. Tako se granice siromašne, dobre, bogate i ekstremno bogate opskrbljenosti tla fosforom povećavaju ukoliko je izmjenjiva kiselost tla veća od 6, a smanjuju u kiselijim tlima. Uvažavajući takvu interpretaciju rezultata ekstrakcije lakopristupačnog fosfora AL metodom, utvrđeno je da distribucija uzoraka unutar različitih kategorija kiselosti bila prilično heterogena, odnosno veći je broj tala pripadao kategoriji jako siromašnih i siromašnih tala (174 uzorka), dok je kategorijama bogatih i ekstremno bogatih tala pripadalo manje uzoraka (101). U kategoriju dobro opskrbljenih tala fosforom pripadalo je 87 uzoraka. Minimalna koncentracija AL-fosfora 0,10 mg kg-1 P2O5 zabilježena je u uzorku blago kisele izmjenjive pH reakcije, dok je maksimalna koncentracija AL-fosfora od 468,90 mg kg-1 P2O5 utvrđena u karbonatnom uzorku.

5.2.Organski fosfor u tlu

Osim osnovnih analiza na istom broju uzoraka određena je količina organskog fosfora u tlu. Organski fosfor utvrđen je pomoću dvije metode: KUO metodom i metodom pomoću tri ekstrakcije.U većini tala kako ističu Borie i Rubio (2003.) organski fosor tla predstavlja više od 50 % ukupnog fosfora i to većinom u obliku inositol penta i heksa fosfata vezanih željezom i aluminijem. Autori također navode da je od krucijalnog značaja aktivnost enzima fosfataze u tlu jer većina biljaka može usvojiti fosfor isključivo u anorganskom obliku.

O fosforilaciji, kao i o pristupačnosti različitih spojeva organskog fosfora dodanih u tlo postoje brojni podaci, ali se vrlo malo zna o pristupačnosti čistog organskog fosfora u tlu. Dokaz kako je organski fosfor u tlu iskorišten od strane biljaka, velikim dijelom leži u istraživanjima koja se bave promjenama sadržaja ukupnog organskog fosfora u tlu prilikom obrade tla.

Sholleenberger (2005.) je ispitivao sadržaj ukupnog i organskog fosfora na 12 izvornih tala koja nisu obrađivana, te redovno obrađivanih tala. Prilikom istraživanja došao je do sljedećih rezultata: prosječan gubitak ukupnog i organskog fosfora na obrađivanim tlima kretao se od 26-28 %. Iako je naknadno otkriveno kako organski fosfor nije bio potpuno ekstrahiran iz tla metodom koju je koristio Sholleenberger podaci ovog istraživanja bez sumnje imaju kvalitativan značaj.

U sličnom istraživanju, Pearson (2006.) usporedio je sadržaj organskog i mineralnog fosfora u slojevima tla od 0-15 cm u izvornim tlima bez obrade, te stalno obrađivanim tlima. Prosječna količina organskog i mineralnog fosfora na stalno obrađivanim tlima je iznosila 192 mg/kg i 182 mg/kg, dok je na izvornim tlima bez obrade prosječna količina bila veća, te je iznosila 275 mg/kg za organski, te 236 mg/kg za mineralni fosfor. Prosječni gubitak organskog fosfora iznosio je 83 mg/kg u usporedbi s gubitkom mineralnog fosfora od 55 mg/kg. Nadalje, pokazano je kako je znatan gubitak organskog fosfora u tlu mogao nastati tijekom dužeg vremenskog razdoblja. Autor je svjestan nedostatka istraživanja koja se bave pokušajima određivanja količine mineraliziranog organskog fosfora u različitim tlima, tijekom kraćeg vremenskog razdoblja. Takva istraživanja mogu biti vrijedna u procjeni statusa fosfora u tlu.

Najčešće korištene metode za ekstrakciju organskog fosfora prema Kuo (1996.) su metode žarenja ili ekstrakcije pomoću koncentrirane kloridne kiseline, koncentrirane sulfatne kiseline ili acetilacetona kao glavnih ekstraktanata, jer jake kiseline otapaju željezo i aluminijeve okside i premještaju aluminij i željezo te ostale polivalentne katione, što rezultira taloženjem organskog fosfora. Transformacija organskog dušika u mineralni dušik je već proučena ispitivanjem sadržaja nitrata tijekom inkubacije. U slučaju organskog fosfora, određivanje

sadržaja mineralnog fosfora oslobođenog tijekom inkubacije je kompliciranо zbog činjenice da mineralni fosfor nije topljiv u vodi. Svrha ove faze istraživanja je otkriti mogućnosti određivanja sadržaja organskog fosfora koji tijekom inkubacije prelazi u mineralni oblik. Dostupni dokazi ukazuju na to da je glavni oblik organskog fosfora pronađenog u tlu fitin, njegovi derivati, te spojevi kao nukleinske kiseline. Pokazano je kako se male količine ova dva oblika fosfora mogu kvantitativno odvojiti taloženjem sa natrijevim hidroksidom. Kada se natrijev hidroksid doda ekstraktu koji sadrži organski fosfor, doći će do stvaranja dvije frakcije. Jedna frakcija će se nalaziti u talogu, dok će druga frakcija ostati u filtratu. Frakcija koja je istaložena natrijevim hidroksidom je već defosforilirana i sadrži enzim fitazu, ali ne u korijenu. S druge strane, frakcija koja je ostala u filtratu je izrazito defosforilirana korijenom i sadrži enzim nuklezu. Osjetljivost ovih dvaju frakcija na defosforilaciju alkalnim natrijevim hipobromitom se također razlikuje. Frakcija u talogu postoji kao vrlo stabilan fitin, dok je frakcija u filtratu defosforilirana u otprilike istoj mjeri kao i nukleinske kiseline. Nadalje, količina organskog fosfora u obje frakcije nije dovoljna za izolaciju i pozitivnu identifikaciju prisutnih spojeva. Također ponašanje dvaju frakcija u smislu defosforilacije različitim enzimima i natrijevim hipobromitom snažno ukazuje da se istaložena frakcija u suštini sastoji od fitina i njegovih derivata, dok frakcija u filtratu sadrži oblike nukleinskih kiselina. Činjenica da fitin, kao i njegovi derivati koji su prethodno izolirani iz tla, proučavani zajedno s dokazom da ovi spojevi zajedno sa spojevima poput nukleinskih kiselina čine glavninu organskog fosfora u tlu, dodatno podupire ovo gledište.

Poseban naglasak stavljen je na korelacije između ispitivanih metoda unatoč tome šo metode imaju potpuno drugačiji kemizam djelovanja u tlu. Tako je najveća korelacija utvrđena između druge ekstrakcije s HCl-om i Kuo metode i iznosila je r=0,79**. Nešto niza korelacija utvrđena je između prve ekstrakcije s $NaHCO_3$ i Kuo metode i znosila je r=0,56*. Između treće ekstrakcije s NaOH i Kuo metode nije utvrđena statsitički značajna korelacija, iako su koncentracije organskog fosfora u trećoj ekstrakciji s NaOH i one dobivene Kuo metodom bile najsličnije s prosjekom 370,85 mg/kg(NaOH) i 214,31 mg/kg (Kuo).

Međutim, ta razlika predstavlja razliku od više od 50 % organskog foafora dobivenog metodom s tri ekstrakcije što ovu metodu ipak čini pogodnijom za utvrđivanje organskog fosfora u tlu.

6. ZAKLJUČCI

1. Analizirani uzoci imali su široki raspon supstitucijske kiselosti od jako kiselog do slabo alkalnog.
2. Po koncentraciji AL fosfora pripadali su u skupne siromašnih do jako bogatih, a po koncnetraciji AL kalija u kategorije od dobro opskrbljenih do jako bogatih.
3. Najhomogeniji su bili rezulatai sadržaja organske tvari gdje svi uzorci pripadaju klasi osrednje humoznih tala.
4. Koncentracija organskog fosfora određivala se temeljem dvije metode: ekstrakcijom s u tri stuonja i Kuo metodom.
5. Prosječno je metodom u tri ekstrakcije određeno 370,85 mg/kg organskog fosfora što je bilo za 57 % više od koncnetracija organskog fosfora utvrđenog Kuo metodom (214,31 mg/kg).
6. Između tri ekstrakcije i Kuo metode utvrđena je korelacija u nizu $NaOH<NaHCO_3<HCl$.

7. POPIS LITERATURE

1. Briški, F (2013.) Zaštita okoliša (Internet skripta za studente preddiplomskih studija Ekoinženjerstva i Kemijsko inženjerstvo),Sveučilište u Zagrebu
2. Kristek, S. (2007.) Agroekologija – predavanja prilagođena studentima stručnih studija smjerova Hortikultura i Ratarstvo. Osijek
3. Lončarić, Z. i suradnici (2013) : Plodnost i opterećenost tala u pograničnom području
4. Novak, B ; Žutić, I.; Toth, N. (2003.) Utjecaj mikorize i različito obojenih PE filmova na prinos slatkog krumpira- batata (*Ipomea batatas L.*). Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zavod za povrćastvo, Zagreb
5. Parađiković, N.(2002) : Osnove proizvodnja povrća,Katava d.o.o. Osijek
6. Šolič, M. (2005): Ekologija mora (PDF predavanja)
7. Vukadinović V., Lončarić Z. (1998.) Ishrana bilja. Poljoprivredni fakultet u Osijeku. Zavod za kemiju, biologiju i fiziku
8. Vukadinović V,. Vukadinović V. (2011.) Ishrana bilja. Poljoprivredni fakultet u Osijeku

Članci:

1. Benko,B (2015), Mikoriza i cjepljenje- povećan prinos povrća, Gospodarski list 13/2015., str. 40-42.
2. Vasilj, V (2007) Mikrobiološke karakteristike različitih tipova tala zapadne Hercegovine, Agronomski glasnik, Znanstveni članak

Internetske stranice:

1. http://jadran.izor.hr/hr/nastava/solic/EKOLOGIJA/PREDAVANJA/09.%20KRUZENJE%20TVARI%20KROZ%20EKOSISTEM.pdf (posjećeno: 02.02.2016.)
2. Mikoriza – simbioza korijenja i micelija mikoriznih gljiva, portal Agroklub.com Dostupno na: http://www.gnojidba.info/mala-skola-gnojidbe/mikoriza-simbioza-korijenja-i-micelija-mikoriznih-gljiva (posjećeno: 21.01.2016.)

3. Učinkovitost endomikorize na neke povrtne kulture, Novak, Bruno, Poljoprivredna znanstvena smotra (0370-0291) 63 (1998), 4; 187-198, Dostupno na : http://www.gnojidba.info/gnojidba-povrca/ucinkovitost-endomikorize-na-neke-povrtne-kulture/ (posjećeno : 21.01.2016)
4. BBC – Science and Environment (2013.) *Fungus network plays role in plant communication*. Dostupno na: http://www.bbc.com/news/science-environment-22462855 (posjećeno 3.2.2016)

8. SAŽETAK

U ovom radu utvrđivale su se razlike između metoda za određivanje organskog fosfora u tlu uspoređivanjem dvije metode: KUO žarenjem te metodom s NaOH u tri ekstrakcije. Istraživanje je provedeno na se na uzorcima ratarskih tala kontinentalne Hrvatske. Svaki uzorak težio je 0,5-1 kg. Provedene su i osnovne laboratorijske analize kao što su: određivanje pH tla, sadržaj humusa u tlu, kocentracija AL-pristupačnog fosfora, te analiza dopunskih svojstava tala. Ukupno je analizirano 30 uzoraka tala, no zbog kompleksnosti provedenih metoda i heterogenosti rezultata rezultati su svedeni na 10 uzoraka. Rezultati aktualne kiselosti u uzorcima kretale su se u rasponu od pH (H_20) 5,10 do pH (H_20) 8,32 i supstitucijske kiselosti od pH (KCl) 3,88 do pH (KCl) 7,52 što je raspon od slabokisele do slabo alkalne reakcije. Rezultati koncentracije fosfora prema AL-metodi kretali su se u kiselim tlima u rasponu od 23,33 do 95,42 mg P_2O_5/100g tla, dok u alkalnim tlima u rasponu od 8,05 do 35,47 mg P_2O_5/100g tla. U svim ispitanim uzorcima humus se nalazio u razini osrednje humoznih tala. Prosječno je metodom u tri ekstrakcije određeno 370,85 mg/kg organskog fosfora što je bilo za 57 % više od koncnetracija organskog fosfora utvrđenog Kuo metodom (214,31 mg/kg).Između tri ekstrakcije i Kuo metode utvrđena je korelacija u nizu NaOH<NaHCO3<HCl.

9. SUMMARY

The aim of this paper was to determined the difference between the two methods for the organic phosphorus determination in the soil: KUO annealing method with NaOH, and the three extractions. The analysis were made on samples of arable soils in continental Croatian. Each sample weighed 0.5-1 kg ad basiy soil chemical properties were determined such as pH of the soil, humus content in the soil, concentration of AL-available phosphorus, as well as analisysis of additional properties of soils were determined too. In total were analyses 30 soil samples, but due to the complexity of implemented methods and heterogeneity of results results are reduced to 10 samples. Results of actual acidity of the samples were in the range of pH (H20) to pH 5.10 (H20) 8,32, and substitution from pH (KCl) to 3.88 pH (KCl) 7.52 as in the range of weak acid to slightly alkaline. The results of the phosphorus concentration by AL-method ranged in acidic soils ranging from 23.33 to 95.42 mg of P2O5 / 100 g soil, while in alkaline soils ranging from 8.05 to 35.47 mg of P2O5 / 100 g of soil. In all examined samples humus content was found in the level of the medium humus soil. Average the three extraction method specified in 370.85 mg / kg of organic phosphorus which was 57% more than the organic phosphorus burning appliances or chimneys Kuo established method (214.31 mg / kg) and three extractions Amongst Kuo methods and correlation between the series of NaOH <NaHCO3 <HCl.

10. POPIS TABLICA

1. Tablica 1. Rezultati osnovne analize tla ispitivanih uzoraka
2. Tablica 2. Rezultati ispitivanja organskog fosfora pomoću 3 ekstrakcije
3. Tablica 3. Rezultati organskog fosfora Kuo metodom

11. POPIS SHEMA

1. Shema 1. Shematski prikaz postupka određivanja koncentracije organksog fosfora u tlu

12. POPIS GRAFIKONA

1. Grafikon 1. Klase kiselosti tla
2. Grafikon 2. Klase opskrbljenosti tla fosforom prema AL-metodi
3. Grafikon 3. Korelacija između prve ekstrakcije s $NaHCO_3$ i Kuo metode
4. Grafikon 4. Korelacija između druge ekstrakcije s HCl i Kuo metode
5. Grafikon 5. Korelacija između treće ekstrakcije s NaOH i Kuo metode

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku **Diplomski rad**
Poljoprivredni fakultet u Osijeku
Smjer: Ekološka poljoprivreda

POGODNOST METODA ZA UTVRĐIVANJE ORGANSKOG FOSFORA U TLU

Ivana Marković

Sažetak:
U ovom radu utvrđivale su se razlike između metoda za određivanje organskog fosfora u tlu uspoređivanjem dvije metode: KUO žarenjem te metodom s NaOH u tri ekstrakcije. Istraživanje je provedeno na se na uzorcima ratarskih tala kontinentalne Hrvatske. Svaki uzorak težio je 0,5-1 kg. Provedene su i osnovne laboratorijske analize kao što su: određivanje pH tla, sadržaj humusa u tlu, kocentracija AL-pristupačnog fosfora, te analiza dopunskih svojstava tala. Ukupno je analizirano 30 uzoraka tala, no zbog kompleksnosti provedenih metoda i heterogenosti rezultata rezultati su svedeni na 10 uzoraka. Rezultati aktualne kiselosti u uzorcima kretale su se u rasponu od pH (H_20) 5,10 do pH (H_20) 8,32 i supstitucijske kiselosti od pH (KCl) 3,88 do pH (KCl) 7,52 što je raspon od slabokisele do slabo alkalne reakcije. Rezultati koncentracije fosfora prema AL-metodi kretali su se u kiselim tlima u rasponu od 23,33 do 95,42 mg P2O5/100g tla, dok u alkalnim tlima u rasponu od 8,05 do 35,47 mg P2O5/100g tla. U svim ispitanim uzorcima humus se nalazio u razini osrednje humoznih tala. Prosječno je metodom u tri ekstrakcije određeno 370,85 mg/kg organskog fosfora što je bilo za 57 % više od koncnetracija organskog fosfora utvrđenog Kuo metodom (214,31 mg/kg).Između tri ekstrakcije i Kuo metode utvrđena je korelacija u nizu NaOH<NaHCO3<HCl.

Ključne riječi: pH, KUO metoda, ekstrakcija u tri koraka metoda s NaOH, organski fosfor

Rad je izrađen pri: Poljoprivredni fakultet u Osijeku
Mentor: doc.dr.sc. Brigita Popović

Broj stranica: 29
Broj grafikona i slika: 5
Broj tablica: 3
Broj literaturnih navoda: 14
Jezik izvornika: Hrvatski

Stručno povjerenstvo za obranu:
1. prof.dr.sc Suzana Kristek, predsjednik i član
2. doc.dr.sc. Brigita Popović, voditelj i član
3. doc.dr.sc. Krunoslav Karalić, član

Rad je pohranjen u: Knjižnica Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku, Sveučilište u Osijeku

BASIC DODOCUMENTATION CARD

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek **Master thesis**
Faculty of agriculture in Osijek
Course: Organic agriculture

Ivana Marković

Summary:
The aim of this paper was to determined the difference between the two methods for the organic phosphorus determination in the soil: KUO annealing method with NaOH, and the three extractions. The analysis were made on samples of arable soils in continental Croatian. Each sample weighed 0.5-1 kg ad basiy soil chemical properties were determined such as pH of the soil, humus content in the soil, concentration of AL-available phosphorus, as well as analisysis of additional properties of soils were determined too. In total were analyses 30 soil samples, but due to the complexity of implemented methods and heterogeneity of results results are reduced to 10 samples. Results of actual acidity of the samples were in the range of pH (H_20) to pH 5.10 (H_20) 8,32, and substitution from pH (KCl) to 3.88 pH (KCl) 7.52 as in the range of weak acid to slightly alkaline. The results of the phosphorus concentration by AL-method ranged in acidic soils ranging from 23.33 to 95.42 mg of P2O5 / 100 g soil, while in alkaline soils ranging from 8.05 to 35.47 mg of P2O5 / 100 g of soil. In all examined sampleshumus content was found in the level of the medium humus soil. Average the three extraction method specified in 370.85 mg / kg of organic phosphorus which was 57% more than the organic phosphorus burning appliances or chimneys Kuo established method (214.31 mg / kg) and three extractions Amongst Kuo methods and correlation between the series of NaOH <NaHCO3 <HCl.

Key words: Ph, KUO method, three extraction method NaOH, organic P

Thesis performed at: Faculty of agriculture in Osijek
Menthor: doc.dr.sc. Brigita Popović

Number of pages: 29
Number of figures and pictures: 5
Number of tables: 3
Number of references: 14
Original in: Croatian

Reviewers:
1. Suzana Kristek, Ph. D
2. Brigita Popović, Ph.D , menthor
3. Krunoslav Karalić, Ph.D.

Thesis deposited at: Library, Faculty of agriculture in Osijek, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek