



2004-2006 m. Bendrojo programavimo dokumento 2 prioriteto „Žmogiškųjų išteklių plėtra“ 4 priemonė „Mokymosi visą gyvenimą sąlygų plėtra“

Projekto sutarties numeris: **ESF/2004/2.4.0-K01-160/SUT-261**

Projekto pavadinimas: **Inovatyvūs mokymosi metodai ir naujausios technologijos gamtos mokslų bakalauro rengimui**

APL 211. APLINKA IR VYSTYMASIS

Laboratorinis darbas

NITRITŲ, NITRATŲ IR AMONIO DIRVOŽEMYJE NUSTATYMAS

Azotas yra daugiausiai paplitęs elementas atmosferoje – apie 78 % atmosferos sudaro dujinis azotas (N_2). Tačiau šios dujos dėl labai stiprios trigubos jungties tarp dviejų azoto atomų yra pakankamai inertiškos ir didžioji dalis gyvybės formų, įskaitant augalus ir gyvūnus, nesugeba gyvybę palaikančiuose biocheminiuose procesuose šio azoto panaudoti. Azotas yra pagrindinė maisto medžiaga visiems žaliesiems augalams, tačiau kad jį pasisavinti, jo forma turi būti kitokia nei esanti atmosferoje. Augalai geba pasisavinti azotą nitratų (NO_3^-) ir amonio (NH_4^+) formoje, bet šių formų dirvožemyje yra ribotai ir lengvai netenkama išsiplaunant ar biologiškai redukuojantis (denitrifikacijos procesas). Tai gyvybiškai svarbus, būtinas elementas ir baltymų, nukleino rūgščių ir kitų ląstelių komponentas.

Didžiausia dalis azoto yra dirvožemio organinėje medžiagoje. Bendra azoto ciklo schema pateikta 1 paveiksle. Azoto atomas šiame cikle gali būti skirtingose cheminėse formose, kiekvienas su savo savybėmis ir pasekmėmis ekosistemai. Šis ciklas paaiškina kodėl augalija (ir netiesiogiai gyvūnai) gali panaudoti azotą ir taip pašalinti jį iš dirvožemio, tačiau nesukelti šios būtinos maisto medžiagos išsekimo.



1 pav. Azoto ciklas dirvožemyje.

Azoto fikscija – pirmoji azoto ciklo pakopa.

Tai dujinio azoto (N₂) virsmas į NH₃ ar organinį azotą. Azoto fikscija apibrėžiama kaip atmosferos azoto (N₂) redukcija į amoniaką ir tai biologiškai gali padaryti tik specifinė mikroorganizmų grupė. Tokiu būdu amoniakas yra susijungęs su amino rūgštimis ir baltymais.

Amonifikacija – tai azoto organinių medžiagų skaidymasis iki amoniako (NH₃).

Tai biocheminis procesas, kurio metu amoniakinis azotas yra atlaisvinamas iš sudedamųjų azoto organinių junginių. Dirvožemio bakterijos skaido organines dirvožemio formas dirvožemyje į amoniako formas. Šis procesas vadinamas amonifikacija. Šio proceso metu atsilaisvinęs azoto, tinkamo augalui pasisavinti, kiekis yra tiesiogiai susijęs su organinės medžiagos kiekiu.

Nitrifikacija yra NH₄⁺ virsmas į NO₃⁻. Šią aerobinę reakciją atlieka autotrofinės bakterijos. Maksimalus nitrifikacijos greitis yra esant neutraliam pH ir aukštai temperatūrai – tai veiksniai, palankiai veikiantys šį procesą vykdančias bakterijas – *Nitrosomonas* ir *Nitrobakteris*. Nitrifikacija vyksta dviem etapais. Pirmiausia amonis oksiduojasi iki nitrito jono, kuris greitai oksiduojamas iki nitratų:



Pagal nitratinio azoto kiekį (kg/ha) dirvožemiai skirstomi:

- Labai mažo azottingumo – mažiau kaip 20 kg/ha nitratinio azoto;
- Mažo azottingumo – 20– 40 kg/ha;
- Vidutinio azottingumo – 40- 60 kg/ha;

- Didelio azotingumo – daugiau 60 kg/ha.

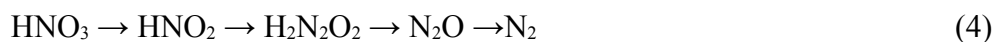
Nitratų perteklius dirvožemyje gali neigiamai paveikti žmogaus ir gyvūnų sveikatą ir gali pabloginti aplinkos kokybę. Dideli nitratų kiekiai dirvožemyje gali sukelti pakankamai dideles nitratų koncentracijas geriamajame vandenyje, sukelti grėsmę kūdikių ir ojančių gyvūnų sveikatai. Svarbu ir tai, kad tirpių azoto junginių iš dirvožemio patekimas į vandens sistemas gali sutrikdyti šių sistemų pusiausvyrą, sukelti eutrofizaciją, deguonies kiekio vandenyje sumažėjimą ir vandens gyvūnų nykimą.

Denitrifikacija – nitratų redukavimas iki laisvojo atmosferos azoto N₂, esant mažam deguonies kiekiui:



Denitrifikacija vyksta anaerobinėmis sąlygomis - užmirkusiame ar sutryptame dirvožemyje arba jo sudėtyje esant labai daug organinių medžiagų. Priešingai nei amonio jonai, neigiamo krūvio nitrato jonai nėra adsorbuojami neigiamai įkrautų koloidų, kurie dominuoja daugelyje dirvožemių. Todėl nitrato jonai juda su dirvožemio vandeniu ir lengvai išplaunami iš dirvožemio.

Nitratinį azotą į dujinį redukuoja denitrifikacijos bakterijos, nitratus paversdamos azoto oksidais ir molekulinio azotu (NO, N₂O, N₂). Denitrifikacijos bakterijos veikia keliais etapais:



Nitrifikacijos ir denitrifikacijos procesų metu apie 10-20 % patekusio azoto netenkama.

Azoto junginių koncentracijos nustatymas

Azoto junginių koncentracija dirvožemyje nustatoma vizualiniu-kolorimetriniu metodu, naudojantis specialiu Visocolor rinkiniu dirvožemio analizei. Su Visocolor rinkiniu dirvožemio analizės tyrimai gali būti atliekami lauko darbų metu ar laboratorijoje.

Amonio aptikimo riba 10–300 mg/kg, nitratų 10 – 125 mg/l.

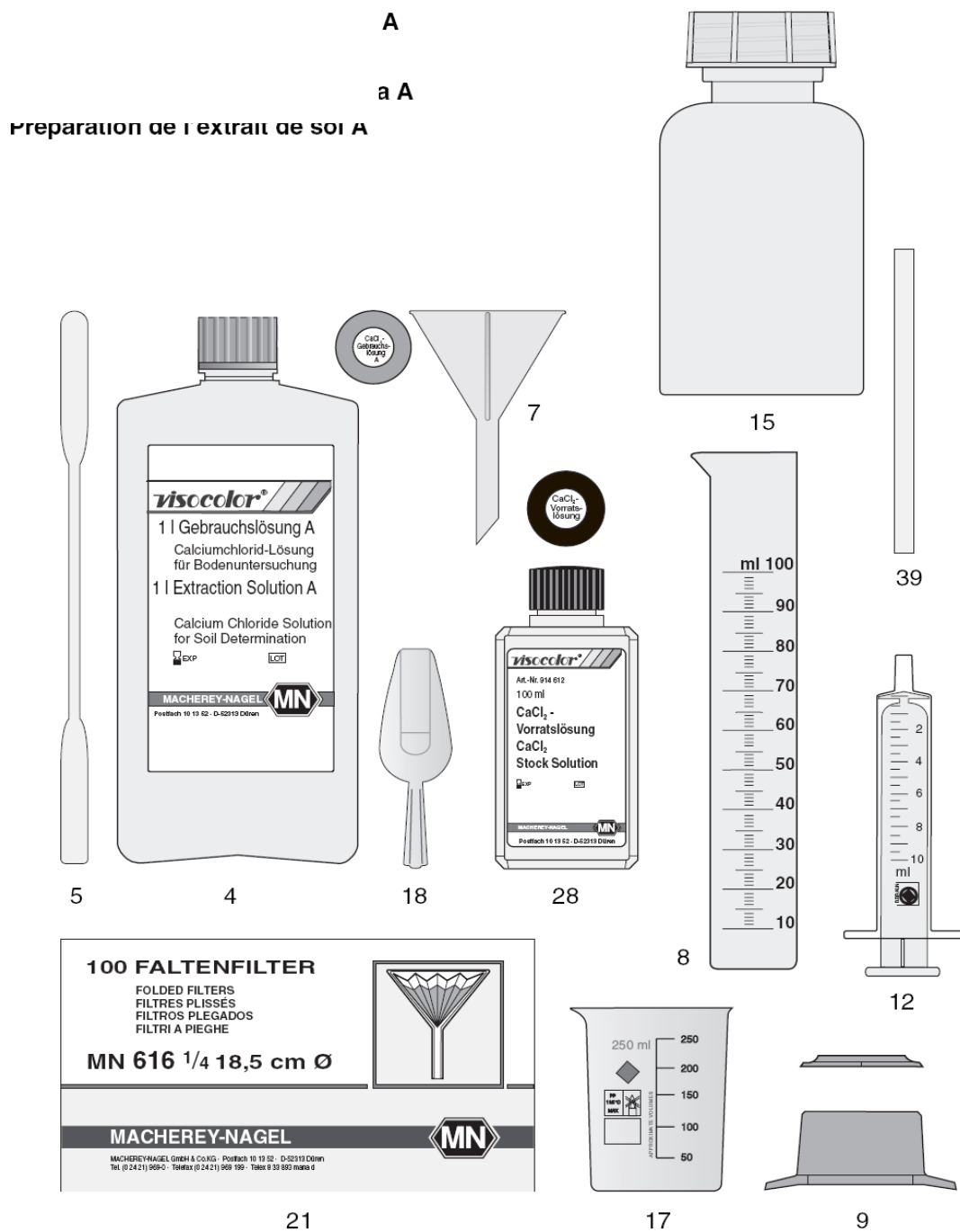
<i>Prietaisai ir indai</i>	Indikatorinės lazdelės QUANTOFIX Nitrat/Nitrit (23)
	Indikatorinės lazdelės QUANTOFIX Ammonium (24)
	Plastmasinis švirkštas (12) ir žarnelė (39)
	Sietelis (2)
	Svarstyklės (1)
	Piltuvėlis (7) ir indelis (17)
	Mėgintuvėlis matavimui (8) ir jo pagrindas (9)
	Mėgintuvėlis amoniui (31)
	Filtrai MN 616 ¼ (21)
	Buteliukas plakimui (15)

Semtuvas (18) ir mentelė (5)

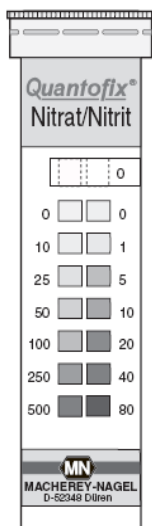
Cheminiai reagentai Ekstrakcinis CaCl_2 tirpalas A (4)

CaCl_2 atsarginis tirpalas (28)

Ammonium – 1 (29)

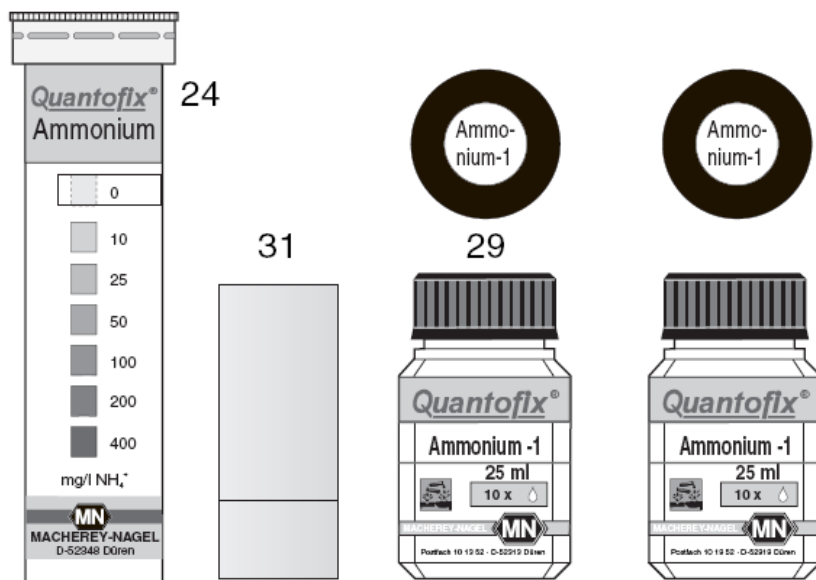


1 pav. Priemonės, reikalingos ekstrakcinio tirpalo A paruošimui.



23

2 pav. Indikatoriniai pagaliukai, skirti nitratų/nitritų dirvožemio mėginyje nustatyti.



24

31

29

3 pav. Priemonės, reikalingos amonio kiekiui dirvožemio mėginyje nustatyti.

Amonio, nitritų ir nitratų koncentracijos dirvožemyje nustatymas

Darbo eiga

Nitritų, nitratų ir amonio koncentracijos dirvožemyje nustatomos naudojantis VISOCOLOR reagentų rinkiniu. Visos nustatymui reikalingos priemonės pateiktos 1–3 paveiksluose.

Pirmiausiai paruošiamas dirvožemio ekstraktas A, kuriame, naudojant indikatorines lazdeles QUANTOFIX Nitrat/Nitrit ir Ammonium, nustatomos nitritų, nitratų ir amonio koncentracijos.

Dirvožemio ekstrakto A paruošimas

Dirvožemio ekstraktas A ruošiamas naudojant ekstrakcinį tirpalą A – CaCl_2 tirpalą ($0,0125 \text{ mol/dm}^3$).

Plastmasiniu švirškštu (12) paimti 10 ml CaCl_2 tirpalo (28) ir supilti i buteliuką ekstraktiniam tirpalui A (4). Į jį pripylus 1 l distiliuoto vandens, išmaišyti.

Dirvožemio ekstraktas A ruošiamas iš neišdžiovinto dirvožemio, tačiau dirvožemis neturėtų būti šlapias. Jei įmanoma, dirvožemis išsijojamas per sietelį. Sietelio akių plotis yra 2 mm. Tokiu būdu visos dirvožemio dalelės, didesnės nei 2 mm, yra pašalinamos iš dirvožemio mėginio. Analizuojant išsijotus dirvožemio mėginius, gaunami rezultatai būna tikslesni.

Plastikiniame indelyje (17) pasveriami 100 g išsijoto dirvožemio mėginio ir į jį įpilama 100 g ekstraktinio tirpalo A. Su metaline mentele (5) maišyti intensyviai apie 2 min. ir palikti nusistovėti 15 min. Ant 100 ml mėgintuvėlio (8) uždėti piltuvą (7) ir įdėti į jį filtrą MN 616 $\frac{1}{4}$ (21). Dirvožemio suspensija pilama į filtrą. Jeigu filtravimo pradžioje filtruojama suspensija bus labai drumzlina, ją reikia perfiltruoti dar kartą. Tačiau tam tikro drumzlėtumo ir atspalvio išvengti nepavyks.

Jeigu dėl didelio smėlio ar molio dalelių skaičiaus dirvožemio mėginys nesifiltruoja, tada siūloma dirvožemio suspensiją supilti į mėgintuvėlį ir palikti stovėti ilgesnį laiką (pvz., per naktį). Tada analizei naudoti skaidrų ar mažiau drumzliną paviršinį sluoksnį (ant 10 ml švirškšto smaigalio užsidėti žarnelę (39) ir švirškštu įtraukti paviršinį sluoksnį).

1 bandymas. Nitritų ir nitratų nustatymas

Į paruoštą dirvožemio ekstraktą A indikatorinė lazdelė apie 1 sekundei įmerkiama. Palaukus apie 1 minutę, kol spalva nusistovės, indikatorinės lazdelės spalva palyginama su spalvine etalonine skale. Testo laukelių pirštais liesti negalima! Jei dirvožemio sudėtyje yra nitrato ar nitrito, testo laukelis nusidažo raudonai violetine spalva.

Išorinis laukelis (indikatorinės lazdelės gale) parodo nitrato kiekį, vidinis laukelis – nitrito kiekį.

2 bandymas. Amonio nustatymas

Matavimo indą (31) užpildyti paruoštu dirvožemio ekstraktu iki 5 ml žymos. Įlašinti 10 lašų Ammonium-1 (29) ir atsargiai sumaišyti. Indikatorinę lazdelę QUANTOFIX Ammonium (24) apie 5 sekundes įmerkiama į paruoštą dirvožemio tirpalą. Palaukus apie 1 minutę, kol spalva nusistovės, indikatorinės lazdelės spalva palyginama su spalvine etalonine skale. Testo laukelių pirštais liesti negalima! Jei dirvožemio sudėtyje yra amonio, testo laukelis nusidažo rusva spalva.

Duomenų tvarkymas

Nustatyta nitratų reikšmė yra mg/l NO_3 . Tam, kad rezultatus gauti mg/kg N, gautą reikšmę reikia padauginti iš 0,23. Pavyzdžiui, $100 \text{ mg/l NO}_3 \times 0,23 = 23,0 \text{ mg/kg N}$.

Nustatyta nitrito reikšmė yra mg/l NO₂. Tam, kad gautume rezultatą mg/kg N, gautą nitrito reikšmę reikia padauginti iš 0,30.

Nustatyta amonio reikšmė yra mg/l NH₄. Tam, kad rezultatus gauti mg/kg N, gautą reikšmę reikia padauginti iš 0,78. Pavyzdžiui, 100 mg/l NH₄ × 0,78 = 78,0 mg/kg N.

Klausimai savarankiškam darbui

1. Kokios pagrindinės azoto junginių formos yra dirvožemyje?
2. Paaiškinkite azoto ciklą dirvožemyje.
3. Kolorimetrinio ir potenciometrinio metodų esmė.

Literatūros sąrašas

1. Motuzas A.J., Buivydaite V., Danilevičius V., Šleiny R. 1996. Dirvotyra. Vilnius: Mokslo ir enciklopedijų leidykla. 375 p.
2. Lietuvos dirvožemiai: kolektyvinė monografija. 2001. A. Liekis (sud.). 32 knyga. Vilnius: Lietuvos mokslas. 1244 p.
3. Agrochemija. 1999. Kučinskas J., Pekarskas J., Pranckietienė I., Vaišvila Z.J., Žemaitis A. (sud.). Kaunas: Lututė, 337 p.
4. Heinrich D., Hergt M. 2001. Ekologijos atlasas. Vilnius: Alma littera, 280 p.