

Mendelova Univerzita v Brně

Lesnická a dřevařská fakulta

Laboratorní postupy pro zpracování půdních vzorků (schématické postupy pro práci v laboratoři)

Obory Lesnictví a Arboristika
garant doc. Dr. Ing. Dušan Vavříček

vypracoval

Ing. Aleš Kučera, Ph.D.



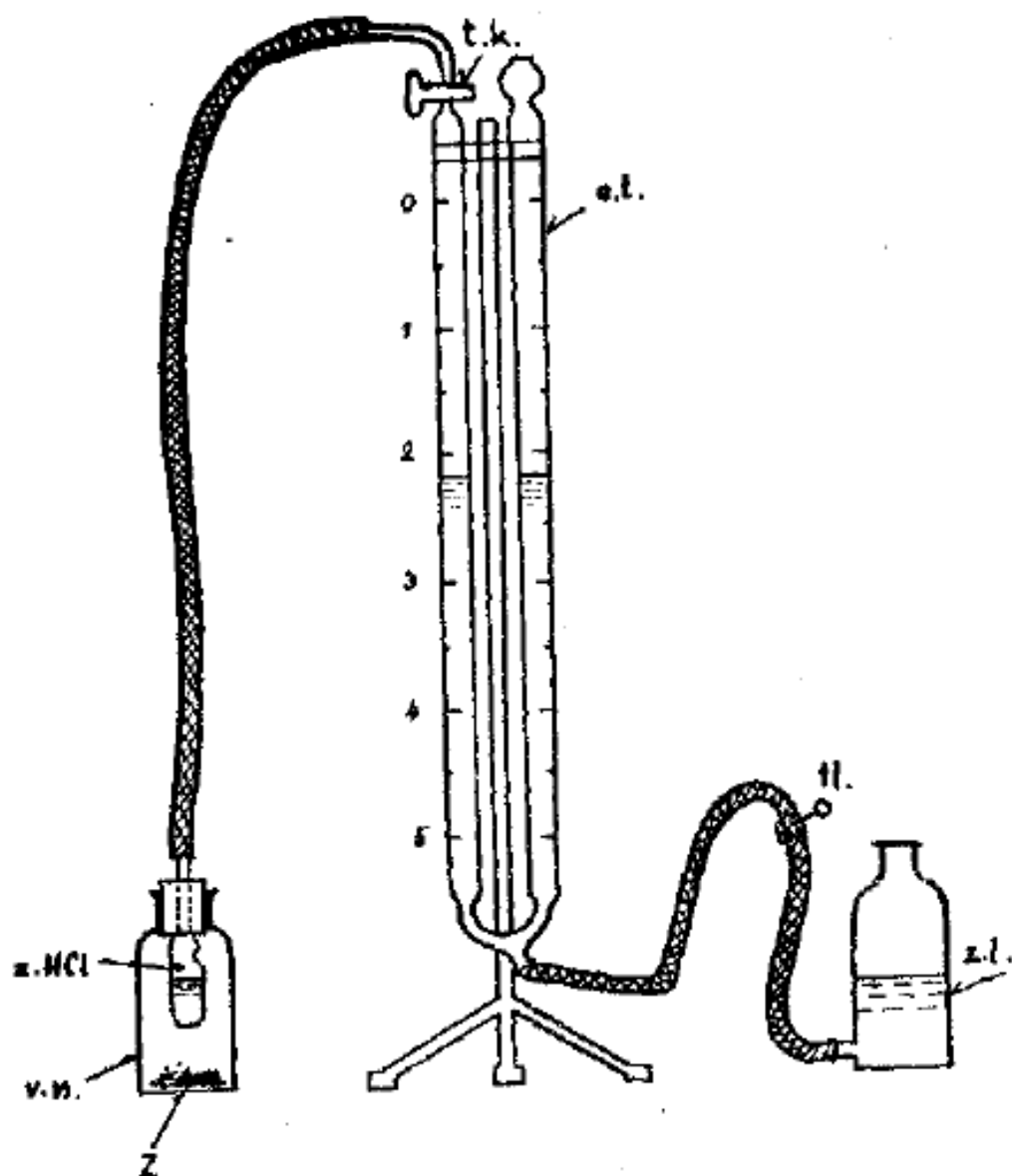
Stanovení půdní katalázy: metodický postup

Pomůcky: Jankův vápnoměr; analytické váhy s přesností měření min. 0,1 g; hliníková váženka pro odvážení množství vzorku, laboratorní lžička

1. Princip metody je měření produkce O_2 rozkladem H_2O_2 . Základní pomůckou je Jankův vápnoměr.
2. Potřebné reagentie: 3% roztok peroxidu vodíku
3. Navážka: humusové horizonty 5g; minerální horizonty 10g, vždy vzorky čerstvé, s původní vlhkostí, přesáté přes síto s velikostí ok 5 mm.
4. Navážený vzorek vsypeme do vyvíjecí nádoby (viz obr.) a přilijeme 50 ml destilované vody. Množství destilované vody odměřujeme odměrným válcem.
5. Do reakční baňky Jankova vápnoměru (viz obrázek) nalijeme 20 ml 3% H_2O_2 a vyvíjecí nádobu dobře zazátkujeme zátkou, ve které je umístěna reakční baňka.
6. Trojcestný kohout nastavíme tak, aby mohl z hadice reakční baňky uniknout vzduch ven do místnosti. Po několika sekundách nastavíme trojcestný kohout tak, aby z měrného válce mohl vzduch unikat ven do místnosti.
7. Zkontrolujeme, je-li na stupnici měrného válce hladina vody na hodnotě 0, pokud není, upravíme hladinu vody vhodnou manipulací se zásobní lahví (za uvolnění tlačky na hadici od zásobní lahve) tak, aby voda do válce buď natékala nebo z něj vytékala do zásobní lahve. Hladina vody musí být na hodnotě 0 v *obou* polovinách měrného válce.
8. Trojcestný kohout nastavíme tak, aby byla spojena hadice vedoucí od vyvíjecí nádoby s prostorem nad hladinou odměrného válce.
9. Poznačíme si aktuální čas a nakloníme uzavřenou vyvíjecí nádobu tak, aby veškerý H_2O_2 vytekl do půdní suspenze.
10. Obsah vyvíjecí nádoby opatrně krouživým pohybem promísíme.
11. Po 15 min. zaznamenáme výšku hladiny vodního sloupce v měrném válci. V případě intenzivní produkce kyslíku zmírníme tlak v celé soustavě upuštěním vody do zásobní lahve z pravého vyrovnávajícího válce Jankova vápnoměru.
12. Pro udávání výsledků vycházíme z toho, že dílek rovný jedné desetiné stupnice (0,1 !!!) představuje 5 ml nově produkovaného kyslíku. V případě výchozí navážky 10 g výsledek dělíme dvěma.
13. Výsledek přepočteme na **produkcí O_2 za 15 min na 5 g sušiny půdního vzorku**.
14. Vyhodnocení viz tabulka 39 Metodických postupů

Hodnocení lesních půd podle aktivity půdní katalázy [$ml O_2 \cdot 5g^{-1} \cdot 15 min^{-1}$]

$ml O_2 \cdot 5g^{-1} \cdot 15 min^{-1}$	aktivity půdní katalázy
Méně než 5	Velmi slabá
5-15	Slabá
15-30	Střední
30-60	Vysoká
Více než 60	Velmi vysoká



Obr. Jankův vápnoměr. T.k. = trojcestný kohout,
e.t. = eudiometrická trubice,
v.n. = vyvíjející nádoba,
z.HCl = zásobník HCl,
Z = zemina,
z.l. = zásobní láhev
tl. = tlačka

Stanovení půdních celuláz: metodický postup

Pomůcky: sterilizovaný filtrační papír, 3x petriho misky, skleněná tyčinka, destilovaná voda

1. Nastříháme proužky filtračního papíru do rozměrů 5 x 1 cm.
2. Do Petriho misky vsypeme půdní vzorek s původní vlhkostí a laboratorní lžičkou jej rovnoměrně rozprostřeme v přibližně 5 mm silné vrstvě
3. Na vzorek položíme 3 proužky filtračního papíru. K jejich dokonalému přilnutí k povrchu půdního vzorku proužky jemně přitlačíme skleněnou tyčinkou. Je-li vzorek tak suchý, že filtrační papír nesmáčí, opatrně jej navlhčíme destilovanou vodou pomocí stříčky.
4. Označíme víčko i boky Petriho misky lihovým fixem a uzavřenou Petriho misku dáme k inkubaci.
5. Každý sudý týden (vždy při dalším laboratorním cvičení) pomocí stříčky vzorek opatrně provlhčíme destilovanou vodou.
6. V určitý den (6 týdnů od založení měření) stanovíme procento úbytku celulózy. Do výpočtu zahrnujeme pouze plochu zcela rozložené celulózy. Při kolonizaci půdními houbami celulóza zcela zmizí nebo je zakryta mycelií jednotlivých druhů mikromycet. Při kolonizaci bakteriemi a aktinomycetami zůstává na povrchu vzorku sliznatá, mokvavá vrstvička. Částečně rozložená celulóza indikuje neukončený rozklad a do výpočtu se nezahrnuje.
7. K zjištění přesného procenta úbytku použijeme rastr 5 x 1 cm rozdělený na 20 stejných políček 5 x 5 mm. Každé políčko představuje 5% plochy proužku.
8. Kvantifikaci ukončeného rozkladu celulózy provedeme u všech tří jednotlivých papírků
9. Z daných tří hodnot spočítáme aritmetický průměr.

Výpočet:

$$A = P/T$$

Kde:

A – míra aktivity půdních celuláz,

P – aritmetický průměr úbytků celulózy (procento úbytku plochy)

T – doba inkubace v týdnech

Hodnocení lesních půd podle aktivity půdních celuláz

A	aktivity půdních celuláz
0	Žádná
0-1	Velmi slabá
1-2	Slabá
2-5	Střední
5-10	Vysoká
> 10	Velmi vysoká

Stanovení sušiny: metodický postup

Pomůcky: hliníková vysoušečka; analytické váhy; laboratorní lžička, exsikátor

1. Zvážíme prázdnou vysoušečku, zaznamenáme číslo misky (zpravidla vyražené z dolní strany misky na dně).
2. Do hliníkové vysoušecí misky se vloží vzorek s původní vlhkostí. V případě horizontu měli Oh se vkládá přibližně 3-5 g vzorku, v případě humusového A-horizontu ± 5 g a v případě podpovrchových a substrátových horizontů 8-10 g;
3. Vzorky ve vysoušečce se zváží na analytických vahách s nejvyšší dosažitelnou přesností;
4. Vzorky se suší při teplotě 105 °C po dobu 2-3 hodin;
5. Vysoušečka se vzorkem se vyjme ze sušárny;
6. Po zchlazení v exsikátoru se vzorek v zavíčkované vysoušečce zváží.

Výpočet množství sušiny a obsahu vody ve vzorku:

$$s = [(m_2 - m_0)/(m_1 - m_0)] \cdot 100 \quad [\%]$$

$$w = [(m_1 - m_2)/(m_1 - m_0)] \cdot 100 \quad [\%]$$

kde:

s: hmotnostní podíl sušiny ve vzorku

w: hmotnostní vlhkost pro chemickou analýzu

m_0 : hmotnost prázdné vysoušečky v g

m_1 : hmotnost vysoušečky se vzorkem před vysušením v g

m_2 : hmotnost vysoušečky se vzorkem po vysušení v g

Stanovení hydrofyzikálních vlastností půdy: metodický postup

Pomůcky: fyzikální váleček s víčky; analytické váhy; nasávací zařízení; hodinové sklo; filtrační papír

Postup analýzy fyzikálního válečku:

Poznámka: Veškerá vážení provádíme *vždy* na stejných vahách!

Fyzikální váleček je předem zvážen z prvního cvičení předmětu pedologie a jeho hmotnost je zaznamenána

1. Z řádně odebraného fyzikálního válečku sejmeme nejprve spodní víčko, a na jeho místo přiložíme suchý filtrační papír. Poté váleček i s papírem otočíme a sejmeme i druhé víčko.
2. Váleček s čerstvým vzorkem bez víček zvážíme na analytických vahách. A hodnotu zaznamenáme.
3. Zvážený váleček i s filtračním papírem umístíme na nasávací zařízení (plechová vanička s vodou a s dřevem obaleným filtračním papírem).
4. Váleček přikryjeme hodinovým sklem a necháme nasávat vodu do druhého dne.
5. Druhý den si připravíme tři suché filtrační papíry (pozn.: po nasávání by vzorek ve válečku měl mít lesklý povrch).
6. Po hodině odsávání váleček umístíme i s původním filtračním papírem na nové tři suché filtrační papíry a opět přikryjeme hodinovým sklem.
7. Po druhé hodině odsávání fyzikální váleček i s původním filtračním papírem (bez hodinového skla) zvážíme. Tuto hodnotu zaznamenáme.
8. Váleček umístíme i s původním filtračním papírem do sušárny a necháme sušit. Při příštím cvičení zvážíme váleček s vysušeným půdním vzorkem a s původním filtračním papírem.
9. Fyzikální váleček vysypeme a očistíme, aby byl připraven k dalšímu použití.

Výpočet hodnot hydrofyzikálních vlastností:

maximální kapilární kapacita Θ_{MKK} , měrná hmotnost ρ_s , objemová hmotnost ρ_w , objemová hmotnost redukováná ρ_d , pórovitost P , hmotnostní vlhkost w , objemová vlhkost Θ , provzdušněnost (okamžitá) A , minimální vzdušná kapacita A_{MKK} , nasycenost půdních pórů R_{NP} :

Viz Laboratorní postupy při zjišťování půdních vlastností – analýzy prováděné v rámci pedologického praktika (<http://www.jirman.info/www/ugp/cs/show/30-materialy-ke-stazeni/>):

Výpočet objemové hmotnosti ρ_w

$$\rho_w = (b-a)/V \text{ [g.cm}^{-3}\text{]}$$

kde

b – hmotnost válečku s neporušeným vzorkem v původním stavu,

a – hmotnost válečku s víčky a

V – objem vzorku.

Výpočet objemové hmotnosti redukované ρ_d

$$\rho_d = (c-a)/V \text{ [g.cm}^{-3}\text{]}$$

kde

c – hmotnost válečku se vzorkem vysušeným do konstantní hmotnosti,

a – hmotnost válečku s víčky a

V – objem vzorku.

Stanovení měrné hmotnosti: metodický postup

pozn.: všechna vážení provádíme na stejných vahách z důvodu možných rozdílů v kalibraci vah.

pomůcky: Gay-Lussacův pyknometr se zátkou; analytické váhy; stříčka s destilovanou vodou; malá nálevka; drátek; vaříč;

1. Základní pomůckou je čistý Gay-Lussacův očíslovaný pyknometr s příslušnou zátkou se stejným číslem. Číslo je potřeba nezaměnit a hlídat vždy příslušnou zátku k příslušnému pyknometru.
2. Pyknometr naplníme destilovanou vodou po okraj, aby voda svým meniskem přesahovala kraj hrdla.
3. Pyknometr uzavřeme tak, že krouživým pohybem zátku zasuneme, aby voda prostříkla podélnou kapilárou zátky a v pyknometru ani v zátce nezbyl žádný vzduch.
4. Pyknometr po povrchu osušíme a zvážíme.
5. Pyknometru vyprázdníme a umístíme na váhu. Do hrdla vložíme malou nálevku a vynulujeme hodnotu váhy (značkou „tare“ nebo „zero“). Poté pomocí lžičky, nálevky a drátku vpravíme do pyknometru půdní vzorek ve formě jemnozeme I vysušený do konstantní hmotnosti. Přesnou hodnotu navážky zaznamenáme. Přibližná hodnota navážky by se měla pohybovat mezi cca 8-15 g.
6. Pyknometr naplníme asi z 1/4 až 1/3 vodou a umístíme na plotnu, kde vzorek zahříváme do varu. Při zahřívání je nutno dbát na nevykypění obsahu pyknometru. Suspenzi vaříme cca 10 – 15 min, až na hladině neplave žádná část půdního vzorku.
7. Pyknometr necháme vychladnout na pokojovou teplotu, doplníme destilovanou vodou a zazátkujeme stejným způsobem jako při prvním vážení.
8. Pyknometr se vzorkem a s vodou zvážíme.

Výpočet:

$$\rho_s = m_1 / (m_1 + m_2 - m_3) \quad [\text{g.cm}^{-3}]$$

kde

m_1 – hmotnost vzorku vysušeného do konstantní hmotnosti (navážka vzata ke stanovení),

m_2 – hmotnost pyknometru s destilovanou vodou a

m_3 – hmotnost pyknometru s rozvařeným vzorkem a s destilovanou vodou.

Stanovení procentického podílu humusových látek (ztráta žíháním): metodický postup

pozn.: tato metoda patří v současnosti k metodám orientačním, její výhodou je rychlost, nenáročnost a jednoduchá interpretovatelnost.

pomůcky: tyglík; laboratorní lžička; muflová pec; analytické váhy; kovové kleště; exsikátor

1. Vzorek jemnozeme I vysušený do konstantní hmotnosti nasypeme do předem zváženého a očíslovaného tyglíku, a to přibližně do ½ – 2/3 jeho výšky. Přesnou hodnotu navážky zaznamenáme.
2. Tyglík se vzorkem vložíme do muflovací pece s nastavenou teplotou 550°C.
3. Po dosažení teploty necháme vzorek v muflovací peci po dobu 30 min.
4. Po vyžhání se vzorek z vnitřního prostoru muflovací pece vyjme kovovými kleštěmi a vloží do exsikátoru. Po vychladnutí se tyglík opět zváží.

Výpočet:

$$y = (m_1 - m_2) / m_1 * 100 \quad [\%]$$

kde

m_1 – hmotnost vzorku vysušeného do konstantní hmotnosti a

m_2 – hmotnost vzorku po vyžhání.

Vyhodnocení:

Humus (%)	Půdní horizont
Méně než 1	Velmi slabě humózní
1-2	Slabě humózní
2-5	Humózní
5-20	Silně humózní
Více než 20	Velmi silně humózní

Stanovení půdní acidity aktivní a potenciálně-výměnné: metodický postup

pomůcky: 2x kádinka o objemu 50 ml; 2x míchací tyčinka; odměrný válec 25 ml; pH metr;
laboratorní lžička; analytické váhy

reagencie:

- destilovaná voda
- KCl 1M

1. Do dvou kádinek navážíme 10 g jemnozeme I, jednu kádinku označíme lihovým fixem značkou pH/H₂O, druhou pH/KCl.
2. Do kádinky se značkou pH/H₂O přilijeme 25 ml destilované vody (odměříme pipetou), suspenzi zamícháme skleněnou tyčinkou a necháme dvě hodiny odstát. Obsah občas zamícháme.
3. Do kádinky se značkou pH/KCl přilijeme 25 ml 1 mol KCl, obsah zamícháme a necháme odstát minimálně dvě hodiny (pozn.: metodický postup udává odstát do druhého dne, ale z důvodu časové omezenosti v rámci cvičení tento metodický krok nebudeme provádět. Suspenze se nechá odstát do konce laboratorního cvičení, kdy se provede měření jako poslední úkon).
4. Po dvou hodinách vložíme do suspenze vzorku vodou elektrodu pH metru a po ustálení hodnoty na displeji zapíšeme hodnotu jako pH/H₂O. Měření se provádí na zkalibrovaném pH metru (kalibraci provádí vyučující nebo laboratorní asistent); vlastní proměření vzorku provádí vyučující nebo laboratorní asistent.
5. Před koncem cvičení vložíme do suspenze vzorku s KCl elektrodu pH metru a po ustálení hodnoty na displeji zapíšeme hodnotu jako pH/KCl.

Vyhodnocení:

PH/KCl	PH/H₂O	Typ reakce
Více než 7,0	Více než 7,2	Mírně alkalická
6,1-7,0	6,6-7,2	Neutrální
5,1-6,0	5,6-6,5	Mírně kyselá
4,1-5,0	4,5-5,5	Středně kyselá
3,0-4,0	3,5-4,4	Silně kyselá
Méně než 3,0	Méně než 3,5	Velmi silně kyselá

Stanovení sorpčních vlastností půdy: metodický postup

pozn.: Sorpční vlastnosti sestávají z několika dílčích veličin, z nichž některé zjišťujeme laboratorním stanovením (hydrolytická acidita, obsah výměnných bazí) a některé výpočtem (kationtová výměnná kapacita, stupeň nasycenosti sorpčního komplexu bazickými kationty)

Stanovení hydrolytické acidity (Ha):

Pomůcky: PE vzorkovnice se závitěm; váženka na odvážení vzorků; laboratorní lžička; třepací zařízení; filtrační souprava (nálevka, filtrační papír, kádinka min. 50 ml, ocelový kruh a stojan); byreta 50 n. 100 ml s nálevkou pro nalévání NaOH do byrety; erlen-mayerova baňka; pipeta 50 ml nedělená s nasávacím zařízením

Potřebné reagensy:

- 1 mol roztok octanu sodného (CH₃COONa)
- 1 % roztok fenolftaleinu (acidobazický indikátor)
- 0,1 mol roztok NaOH

1. Do PE vzorkovnice o obsahu 250 ml navážíme 20 g vzorku upraveného ve formě jemnozeme I.
2. Přilijeme 50 ml CH₃COONa (množství odměříme odměrným válcem), vzorkovnici zazátkujeme a necháme na třepačce třepat 1 h.
3. Připravíme si filtrační soupravu (kádinka min. 100 ml, nálevka, ocelový kruh a stojan, filtrační papír).
4. Po hodině třepání suspenzi přefiltrujeme.
5. Z filtrátu odebereme pipetou 25 ml do erlen-mayerovy baňky (o obsahu 100 ml).
6. Přidáme 2-3 kapky fenolftaleinu a titrujeme 0,1 mol roztokem NaOH **do slabě růžového zbarvení**.
7. Povedeme výpočet hodnoty Ha

$$Ha = \frac{(a.f.c(NaOH) \cdot 1000 \cdot K)}{g} \quad [\text{mmol} \cdot \text{kg}^{-1}]$$

kde:

a... spotřebované množství NaOH k titraci [ml]

c(NaOH)... koncentrace NaOH (0,1)

1000... přepočet na 1000 g zeminy

K... korekce na octan sodný (1,75)

g... navážka vzata ke stanovení [g]. V případě, že filtrátu ke stanovení bereme 25 ml, tj. ½ z původní navážky (abychom stanovovali hodnotu S pro celý vzorek, museli bychom z filtrátu odebrat 50 ml, což není možné kvůli ztrátám – část roztoku zůstane ve filtračním papíře, část v zemině), **g je rovno polovině původní navážky a do jmenovatele tedy dosadíme hodnotu 2,5 (g/2)!**

f... faktor NaOH

Stanovení obsahu výměnných bazí (S):

Pomůcky: PE vzorkovnice se závitěm; váženka na odvážení vzorků; laboratorní lžička; třepací zařízení; filtrační souprava (nálevka, filtrační papír, kádinka min. 50 ml, ocelový kruh a stojan); byreta 50 n. 100 ml s nálevkou pro nalévání NaOH do byrety; erlen-mayerova baňka; pipeta 250 ml nedělená s nasávacím zařízením

Potřebné reagenty:

- 0,1 mol HCl
- 0,1 mol NaOH
- 1% roztok fenolftaleinu (acidobazický indikátor)

1. Do PE vzorkovnice o obsahu 250 ml navážíme 5 g vzorku upraveného ve formě jemnozeme I.
2. Přilijeme 50 ml HCl (množství odměříme odměrným válcem), vzorkovnici zazátkujeme a necháme na třepačce třepat 1 h.
3. Připravíme si filtrační soupravu (kádinka min. 100 ml, nálevka, ocelový kruh a stojan, filtrační papír).
4. Po hodině třepání suspenzi přefiltrujeme.
5. Z filtrátu odebereme pipetou 25 ml do erlen-mayerovy baňky (o obsahu 250 ml).
6. Přidáme 2-3 kapky fenolftaleinu a titrujeme 0,1 mol roztokem NaOH **do slabě růžového zbarvení**.
7. Povedeme výpočet hodnoty S

$$S = \frac{((a \cdot f_1 - b \cdot f_2) \cdot M \cdot 1000)}{g} \quad [\text{mmol} \cdot \text{kg}^{-1}]$$

kde:

a... množství HCl spotřebovaného ke stanovení [ml]

f1... faktor HCl (f1 = 1)

b... množství NaOH spotřebovaného k titraci [ml]

f2... faktor NaOH

M... molarita roztoků

g... navážka půdy ke stanovení. V případě, že filtrátu ke stanovení bereme 25 ml, tj. ½ z původní navážky (abychom stanovovali hodnotu S pro celý vzorek, museli bychom z filtrátu odebrat 50 ml, což není možné kvůli ztrátám – část roztoku zůstane ve filtračním papíře, část v zemině), **g je rovno polovině původní navážky a do jmenovatele tedy dosadíme hodnotu 2,5 (g/2)!**

Výpočet ostatních veličin půdní sorpce:

$$T = Ha + S \text{ [mmol} \cdot \text{kg}^{-1}\text{]}$$

kde:

T = kationtová výměnná kapacita

Ha = hydrolytická acidita

S = obsah výměnných bazí

$$V = \frac{S}{T} \cdot 100 \text{ [%]}$$

kde:

V = stupeň nasycenosti sorpčního komplexu bazickými kationty

Vyhodnocení:

Hodnocení stupně nasycení sorpčního komplexu lesních půd bazickými kationty

V (%)	Stupeň nasycení bazickými kationty
Více než 90	Plně nasycená
75 – 90	Vysoce nasycená
50 – 75	Nasycená
30 – 50	Mírně nasycená
30 – 10	Vysoce nenasycená
méně než 10	Extrémně nenasycená

Hodnocení maximální sorpční kapacity výměnných bazických kationů lesních půd

T (mmol.1000 g-1)	Sorpční kapacita
Více než 350	Velmi vysoká
250 – 350	Vysoká
125 – 250	Střední
80 – 125	Nízká
Méně než 80	Velmi nízká

Hodnocení okamžitého obsahu výměnných bazických kationů lesních půd

S (mmol.1000g-1)	Obsah výměnných bazických kationů
Více než 315	Velmi vysoký
190 – 315	Vysoký
65 – 190	Střední
25 – 65	Nízký
Méně než 25	Velmi nízký