

Strona czasopisma: <http://analit.agh.edu.pl/>

Analiza zawartości kwasów humusowych w próbkach środowiskowych pobranych z terenów leśnych w okolicach Olkusza

Content analysis of humic acids in environmental samples collected from forest areas near Olkusz

Marta Bula, Aleksandra Makowska

AGH Akademia Górniczo-Hutnicza, Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki, al. Mickiewicza 30, 30-059 Kraków

ABSTRAKT: Celem pracy było zbadanie i określenie zawartości kwasów humusowych w różnorodnych próbkach środowiskowych pochodzących z terenu Nadleśnictwa Olkusz. Pobrane próbki mchu, gleby i kory analizowano metodą spektrofotometrii UV-Vis. Przedstawiono proces pobierania próbek oraz miejsca poboru. W celu przygotowania zebranych materiałów przeprowadzono suszenie i ekstrakcję kwasów humusowych z użyciem roztworu wodorotlenku sodu. Spektrofotometr UV-Vis posłużył jako narzędzie pomiarowe do oznaczenia kwasów humusowych w próbkach z wykorzystaniem metody krzywej kalibracji. Badania pokazały, iż zawartość kwasów humusowych jest zależna od rodzaju materiału środowiskowego, podobnie jak lokalizacja poboru wraz z zanieczyszczeniami środowiska.

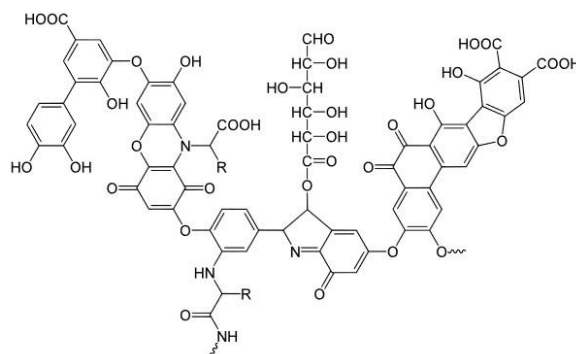
ABSTRACT: The aim of this study was to analyze and determine the content of humic acids in a variety of environmental samples from the Olkusz Forest District. To perform the determination, the collected materials in the form of moss, soil and tree bark were analyzed using UV-Vis spectrophotometry. The process of collecting samples and sampling sites is presented. To prepare the assembled materials, drying and extraction of humic acid using sodium hydroxide solution were carried out. A UV-Vis spectrophotometer was used as a measuring tool after constructing a calibration curve and diluting the samples accordingly. Finally, the concentrations of humic acids in the plant materials were determined using computational analysis. The research has shown that the content of humic acids is dependent on the type of environmental material, as is the location along with environmental pollutants.

Słowa kluczowe: kwasy humusowe, mech, gleba, kora, spektrofotometria UV-VIS,

1. Wstęp

Kwasy humusowe (HAs) są rozbudowanymi związkami organicznymi, które występują w środowisku naturalnym. Występują w glebie, torfie czy nawet w korytach rzek. Są niezbędne w prawidłowym funkcjonowaniu i ewolucji roślin oraz całego ekosystemu. Dodatkowo można je nazwać swoistymi substancjami próchnicznymi, co oznacza, że są głównym budulcem materii organicznej w glebie [1].

Skład chemiczny kwasów humusowych może się różnić w zależności od m.in. warunków klimatycznych czy otoczenia. Zazwyczaj cząsteczka kwasu humusowego jest zbudowana z elementów takich jak grupy karboksylowe, łańcuchy alifatyczne czy pierścienie aromatyczne, lecz ich proporcje różnią się. Poprzez swoje różnorodne właściwości kwasy humusowe są rozpuszczalne w środowisku zasadowym, lecz wytrącane w środowisku kwaśnym. Jako że struktura tych związków jest niezwykle złożona, ich barwa może rozciągać się od koloru ciemnożółtego do czarnego. Przykładowy wzór strukturalny kwasu humusowego został przedstawiony na **Rysunku 1** [2].



Rysunek 1. Wzór strukturalny przykładowego kwasu humusowego [3].

Z powodu różnorodnej budowy kwasów humusowych są one niezwykle skuteczne w absorpcji metali ciężkich. Takie zjawisko można zaobserwować, ponieważ poprzez obecność, w dużych ilościach, grup karboksylowych i fenyłowych powstają związki koordynacyjne. Wytworzone związki kompleksowe w łatwiejszy sposób są transportowane na przykład z opadami deszczu, co z kolei powoduje zanieczyszczenie wody pitnej. Wówczas z powodu obecności metali ciężkich czy nawet zmiany barwy i zapachu, woda nie jest zdatna do picia. W związku z tym, pomimo swojego pozytywnego wpływu na żyzność gleb i stabilizację materii organicznej, istnieje konieczność usuwania kwasów humusowych z wody. Najczęściej wykorzystywanym sposobem jest współstrącanie z węglanem wapnia oraz wodorotlenkiem magnezu przy pH o wartości większej niż 10 [4].

Kwasy humusowe pełnią ważną rolę w rolnictwie. Żyzność gleb i obfitość plonów zależą od wielu czynników, lecz jednym z kluczowych jest obecność w odpowiednich ilościach kwasów humusowych. Powodują one poprawę struktury gleby poprzez tworzenie stabilnej, dobrze napowietrzanej matrycy glebowej. Co więcej zwiększają retencję wody, więc gleba ma mniejszą tendencję do pęknięcia i wysuszenia. Składniki mineralne, które są zatrzymywane w humusowych związkach kompleksowych, przechodzą następnie do uprawianych roślin, gdy te mają na nie, zapotrzebowanie. Z powodu tak dobrego wpływu kwasów humusowych na gleby i uprawy, często stosowane są pochodzące od nich, preparaty nawożące, które mają za zadanie poprawić plony i odnowić grunt [5].

Poznanie zawartości kwasów humusowych w materiałach roślinnych pochodzących z różnych regionów jest niezbędne do poznania jakie aspekty na nie wpływają. Same substancje humusowe można oznaczyć za pomocą odrębnych metod analitycznych, z których każda opiera się na innych prawach. Technika pozwalającą wyznaczyć zawartość kwasów humusowych jest spektrofotometria UV-Vis. Metoda polega na pomiarze absorbancji, która jest miarą absorbowanego promieniowania elektromagnetycznego w nadfiolecie i zakresie widzialnym widma. Spektrofotometria UV-Vis opiera się na prawach Lamberta-Beera a budowa spektrofotometrów może się różnić w zależności od rodzaju aparatu czy producenta. Pomiar wykonuje się przy analitycznej długości fali, czyli zazwyczaj takiej, której odpowiada najintensywniejsze pasmo absorpcji. Spektrofotometria UV-Vis jest techniką szybką i czułą, a w celu wyznaczenia stężenia danej substancji należy wykreślić krzywą kalibracyjną [6].

Innymi metodami wyznaczania zawartości kwasów humusowych są spektroskopia w podczerwieni (IR) oraz spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR). Stosuje się je głównie w celu poznania grup funkcyjnych znajdujących się w danych cząsteczkach kwasów. Spektroskopia IR opiera się na absorpcji promieniowania w podczerwieni z powodu drgających atomów. Poprzez zmierzenie zależności absorbancji od liczby falowej, można poznać budowę danego związku, ponieważ struktury danych grup funkcyjnych oscylują w charakterystyczny dla siebie sposób. Natomiast spektroskopia NMR opiera swoje działanie na absorpcji promieniowania elektromagnetycznego o częstotliwości radiowej. Jądra atomowe, które posiadają właściwości magnetyczne umożliwiają uzyskanie informacji o ilości atomów danego rodzaju. Dodatkowo analiza zjawisk przesunięcia chemicznego czy sprzężeń ustalenie dokładnej budowy kwasu [7].

W większości metod analitycznych, dzięki którym można oznaczyć kwasy humusowe, należy je przeprowadzić w stan ciekły. W celu ich izolacji z danych próbek, można wykonać proces zwany ekstrakcją. Może być ona wykonywana w wielu układach, lecz przy ekstrahowaniu kwasów humusowych z próbek roślinnych najczęściej jest wykonywana metoda IHSS (International Humic Substances Society), wykorzystująca żywicę adsorbującą XAD-8 lub ekstrakcja alkaliczna z użyciem roztworu wodorotlenku sodu [8].

W niniejszym artykule zostały przebadane próbki roślinne pochodzące z terenów Nadleśnictwa Olkusz, znajdującego się na terenie województw śląskiego i małopolskiego. Z powodu działalności człowieka, intensywnej eksploatacji surowców oraz rozwoju przemysłu, naturalne ukształtowanie terenu Nadleśnictwa zostało zmienione. Dodatkowo zanieczyszczenia emitowane z otoczenia negatywnie wpływają na jakość roślin. W związku z wieloletnią działalnością kopalni cynku i ołowiu ZGH Bolesław, teren jest narażony na dużą zawartość tych pierwiastków [9].

W artykule opisano sposób poboru gleby, kory i mchu, ich ekstrakcję i metodykę oznaczenia kwasów humusowych. Do samej analizy stężeń wykorzystano spektrofotometrię UV-Vis, posługując się metodą krzywej kalibracyjnej. Badania przeprowadzono w celu sprawdzenia wpływu odległości terenów przemysłowych na glebę i zawartość kwasów humusowych.

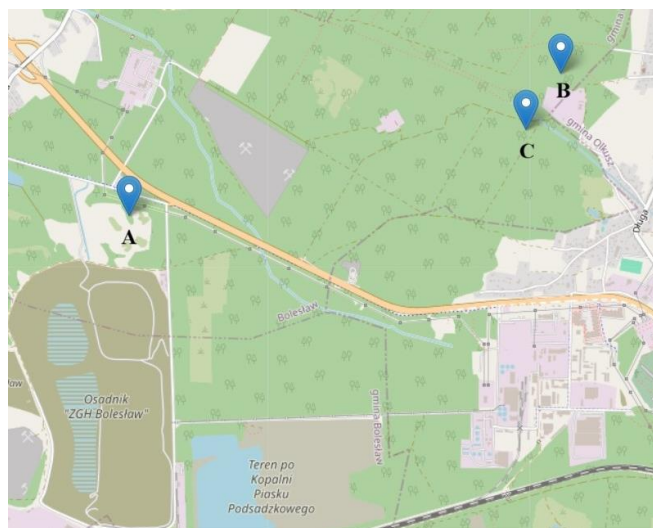
2. Przebieg analiz

2.1. Pobranie próbek

W celu wykonania analizy zawartości kwasów humusowych w próbkach środowiskowych pobrano materiał z terenów leśnych w okolicach Olkusza. Materiał badawczy obejmował:

- 1) Glebę – próbki pobrano z warstwy powierzchniowej (do głębokości 30 cm), która jest najbardziej narażona na akumulację substancji organicznych i zanieczyszczeń metalami ciężkimi.
- 2) Mech – materiał zebrano z żywych części roślin, koncentrując się na zdolności bioakumulacji, co czyni mech cennym wskaźnikiem zanieczyszczeń metalami ciężkimi.
- 3) Korę drzew – fragmenty pobrano z pni drzew na wysokości ok 10 cm nad ziemią. Kora jako element chroniący rośliny przed środowiskiem może odzwierciedlać poziom zanieczyszczeń w atmosferze.

Próbki pobrano za pomocą łopatk, a następnie szczelnie zamknięto w woreczkach strunowych i sterylnych pojemnikach wykonanych z polipropylenu. Każdą próbkę odpowiednio podpisano w zależności od rodzaju materiału oraz miejsca pobrania. Próbki pobrano z 3 różnych punktów, które zostały zaznaczone na **Rysunku 2** oraz opisane w **Tabeli 1**.



Rysunek 2. Punkty poboru próbek.

Tabela 1. Współrzędne geograficzne punktów poboru próbek.

Punkt poboru zaznaczony na mapie	Współrzędne geograficzne
Punkt A	50°17'31.1"N 19°30'00.2"E
Punkt B	50°17'58.7"N 19°32'10.6"E
Punkt C	50°17'47.9"N 19°32'00.0"E

Po dostarczeniu próbek do laboratorium, zostały one dokładnie wysuszone w celu pozbycia się wilgoci. Suchy materiał środowiskowy posłużył do dalszych analiz.

2.2. Sprzęt i odczynniki

2.2.1. Wykorzystany sprzęt

Przygotowanie roztworów: pipety automatyczne, probówki z miękkimi korkami, kolby stożkowe, zlewki, waga, lejek, łaźnia ultradźwiękowa, cylinder miarowy, kolba miarowa.

Przygotowanie próbek: waga laboratoryjna (RadWag WSP 600/C), wytrząsarka (Elpan Laboratory Shaker type 358S), wirówka laboratoryjna (MPW-6, MPW Med. Instruments), probówki do wirówki, naczynka wagowe.

Oznaczenie spektrofotometryczne: spektrofotometr dwuwiązkowy UV-VIS (JascoV-630, JASCO Deutschland GmbH, Germany), kuwety kwarcowe.

2.2.2. Wykorzystane odczynniki

Przygotowanie próbek: 0.1 M roztwór wodorotlenku sodu (POL-AURA), woda bidestylowana, wzorzec kwasu humusowego (Sigma-Aldrich).

2.3. Przygotowanie roztworów

2.3.1. Roztwory wzorcowy i kalibracyjne

Proces przygotowania roztworu wzorcowego rozpoczęto od dokładnego odważenia na wadze 0.05 g wzorca kwasu humusowego. Wzorzec przeniesiono ilościowo do kolby miarowej o objętości 50 ml. Następnie dodano kilka kropel świeżo przygotowanego roztworu wodorotlenku sodu o stężeniu 0.1 M, aby rozpuścić wzorzec. NaOH został wybrany jako medium rozpuszczające ze względu na jego zdolność do tworzenia dobrze rozpuszczalnych soli sodowych kwasów humusowych, co zapewnia większą stabilność i homogeniczność roztworu. Po wprowadzeniu wzorca i NaOH, kolbę uzupełniono wodą destylowaną do poziomu kreski. Następnie kolbę szczelnie zatkało korkiem i intensywnie mieszano, do momentu uzyskania ciemnobrunatnego, jednolitego roztworu, który wskazywał na pełne rozpuszczenie się wzorca.

Aby doprowadzić do całkowitego rozpuszczenia wzorca, kolbę umieszczono w łaźni ultradźwiękowej. Działanie fal ultradźwiękowych skutecznie rozbiło skupiska cząsteczek, przyspieszając proces rozpuszczania. Po zakończeniu tego etapu roztwór oceniono wizualnie pod kątem obecności nierozpuszczonych cząstek. Potwierdzono jego jednorodność i przygotowanie do dalszych etapów analiz.

Na podstawie pierwotnego roztworu wzorcowego wykonano serię roztworów kalibracyjnych o precyzyjnie dobranych stężeniach kwasów humusowych wynoszących kolejno 0,5; 1; 3; 5; 10; 20 i 30 mg/l.

Do przygotowania serii kalibracyjnej zastosowano metodę proporcjonalnego rozcieńczenia, dzięki czemu otrzymano roztwory o stężeniach umożliwiających przeprowadzenie analizy w zakresie liniowości metody oznaczania. Po dodaniu odpowiedniej ilości roztworu wzorcowego każdą próbkę dokładnie wymieszano, aby zapewnić równomierne rozprowadzenie substancji w medium wodnym. Gotowe roztwory kalibracyjne poddano natychmiastowej analizie spektrofotometrycznej.

2.3.2. Przygotowanie próbek

Zebrane próbki środowiskowe (gleby, mchu, kory oraz grzybów) zostały poddane wstępnemu przygotowaniu w celu ekstrakcji kwasów humusowych. Materiał najpierw dokładnie wysuszone w temperaturze pokojowej, aby uniknąć degradacji substancji organicznych. Po wysuszeniu, z każdej próbki odważono 1 g materiału z użyciem wagi analitycznej. Dla każdej próbki wykonano 3 powtórzenia oznaczenia ($n = 3$).

Odważony materiał został umieszczony w plastikowych kolbach stożkowych o pojemności 250 ml, odpornych na działanie alkalicznych roztworów. Następnie każdą próbkę zalano odmierzoną objętością 100 ml 0.1 M roztworu wodorotlenku sodu, który pełnił rolę medium ekstrakcyjnego.

Kolby umieszczono na wytrząsarce mechanicznej i poddano intensywnemu mieszanemu przez okres 2 godzin. Proces ten pozwolił na równomierne uwolnienie kwasów humusowych z matrycy próbki, a także zapewnił pełny kontakt pomiędzy próbką a roztworem ekstrakcyjnym. W kolejnym kroku zawartość kolb poddano wirowaniu w wirówce laboratoryjnej przy prędkości 2500 obr./min przez czas 15 minut, co pozwoliło na szybkie i skuteczne oddzielenie zawiesin i nierozpuszczalnych pozostałości od fazy ciekłej zawierającej wyekstrahowane kwasy humusowe.

Po odwirowaniu roztwory znad osadów ostrożnie pobierano za pomocą pipety, aby uniknąć kontaminacji z osadem. Otrzymany supernatant, o objętości ok 10 ml, przeniesiono do plastikowych probówek, które zostały odpowiednio oznakowane przeznaczonych do dalszej analizy. Roztwory te stanowiły próbki robocze do oznaczeń kwasów humusowych w spektrofotometrze UV-Vis.

Przygotowane roztwory były przechowywane w chłodnym i ciemnym miejscu, aby zapobiec degradacji wyekstrahowanych związków przed wykonaniem właściwych pomiarów analitycznych. Proces ekstrakcji i przygotowania próbek zapewnił ich jednorodność i czystość, co było kluczowe dla uzyskania wiarygodnych wyników analiz.

2.4. Wykonanie pomiarów

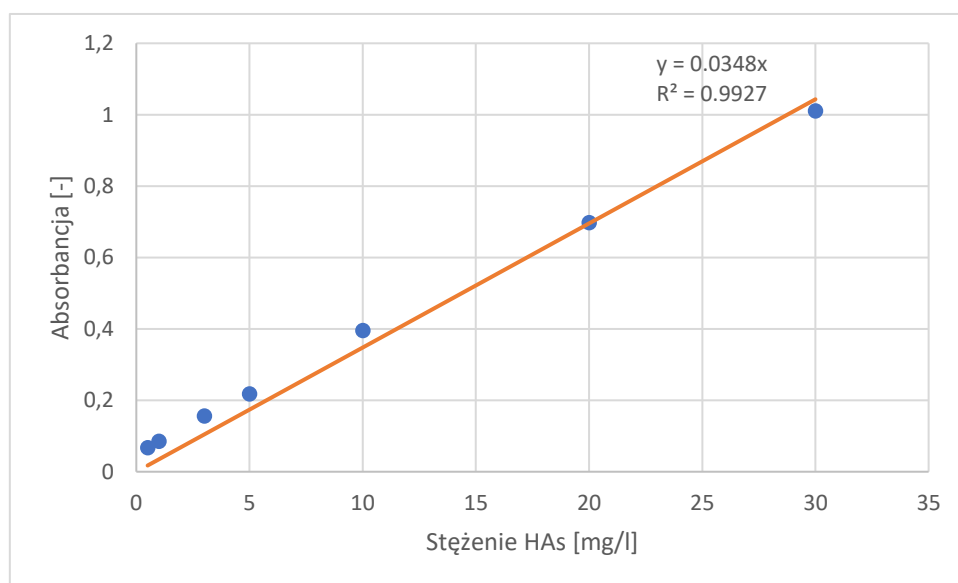
2.4.1. Wykonanie krzywej kalibracji

Stężenie kwasów humusowych w analizowanych próbkach środowiskowych wyznaczano metodą krzywej kalibracji. Do sporządzenia krzywej kalibracyjnej użyto spektrofotometru dwuwiązkowego UV-Vis, który umożliwia precyzyjny pomiar absorbancji w określonym zakresie długości fal. Roztwory kalibracyjne przygotowane na bazie roztworu wzorcowego zostały umieszczone w kuwetach kwarcowych o długości optycznej 1 cm, co zapewniało minimalne straty promieniowania i wysoką dokładność pomiarów.

Każdy roztwór mierzono trzykrotnie, aby zminimalizować błędy pomiarowe i uzyskać bardziej wiarygodne dane. Pomiary wykonywano dla długości fali odpowiadającej maksimum absorpcyjnego kwasów humusowych wynoszącemu $\lambda = 254$ nm. Przed każdym pomiarem kuwetę dokładnie płukano wodą destylowaną i suszono, aby uniknąć kontaminacji oraz wpływu pozostałości poprzednich próbek na wyniki.

Dla każdego roztworu kalibracyjnego wyznaczono średnią wartość absorbancji na podstawie trzech pomiarów, co pozwoliło na redukcję wpływu ewentualnych odchyłeń przypadkowych. Uzyskane dane zapisano w postaci tabelarycznej, przedstawiając średnią wartość absorbancji w funkcji stężenia roztworu.

Na podstawie zebranych danych wykreślono wykres zależności absorbancji od stężenia roztworu. Analiza wykazała, że relacja ta była liniowa w badanym zakresie stężeń, co odpowiada prawu Lamberta-Beera. Na **Rysunku 3** przedstawiono również punkty pomiarowe oraz dopasowaną linię regresji liniowej. Za pomocą arkusza kalkulacyjnego wyznaczono wzór funkcji opisujący wyżej wspomnianą zależność.



Rysunek 3. Krzywa kalibracyjna dla kwasów humusowych w zakresie stężeń $c=0.5 - 30$ mg/l, zarejestrowana przy długości fali $\lambda=254$ nm.

Dopasowana do punktów pomiarowych linia regresji została opisana równaniem kalibracyjnym. Równanie ma postać:

$$A [-] = 0.348 \cdot c [\text{mg/l}] \quad (1)$$

gdzie literą A została oznaczona absorbancja, natomiast literą c oznaczono stężenie. Współczynnik determinacji (R^2) wyniósł 0.9927, co wskazuje na bardzo dobrą zgodność linii regresji z danymi pomiarowymi. Wartość R^2 świadczy o wysokiej precyzji metody i jej przydatności do oznaczania

stężeń kwasów humusowych w badanych próbkach. Krzywa kalibracyjna umożliwia określenie stężenia kwasów humusowych w próbkach środowiskowych na podstawie zmierzonych absorbancji.

2.4.2 Pomiary badanych próbek

Właściwy etap analizy rozpoczęto od zmierzenia absorbancji próbek środowiskowych przygotowanych w sposób opisany wcześniej (2.3.2. *Przygotowanie próbek*). Pomiarów dokonano za pomocą spektrofotometru UV-VIS oraz kuwet kwarcowych. Absorbancję rejestrowano także przy długości fali wynoszącej 254 nm, odpowiadającej maksimum absorpcyjnemu kwasów humusowych.

Dokonano rozcieńczenia wszystkich analizowanych próbek. Po rozcieńczeniu wszystkich roztworów upewniono się, że ich absorbancje mieszczą się w zakresie kalibracji. Po sprawdzeniu każdą próbkę zmierzono trzykrotnie, aby zminimalizować wpływ potencjalnych błędów aparaturowych lub przygotowawczych. Odczyt absorbancji wykonano przy długości fali 254 nm, a uzyskane wyniki uśredniono. Wyniki te posłużyły do dalszych obliczeń zawartości kwasów humusowych.

Średnie wartości absorbancji każdej próbki porównano z krzywą kalibracyjną, aby określić stężenie kwasów humusowych w rozcieńczonych próbkach. Następnie, uwzględniając współczynniki rozcieńczeń, przeliczono rzeczywiste stężenia kwasów humusowych w oryginalnych próbkach.

3. Wyniki

3.1. Wyznaczanie zawartości kwasów humusowych z podziałem na miejsce poboru próbki

Po wykonaniu pomiarów absorbancji dla wszystkich próbek przy użyciu spektrofotometrii UV-Vis, przystąpiono do wyznaczenia zawartości kwasów humusowych w badanych próbkach, uwzględniając stosowane rozcieńczenia, masy próbek oraz uzyskane równania krzywych kalibracyjnych.

Aby otrzymać stężenie kwasów humusowych w badanym roztworze, należało przekształcić równanie krzywej kalibracyjnej i za jego pomocą przeliczyć otrzymane wartości absorbancji. Następnie uwzględniono rozcieńczenia każdej próbki oraz przeliczono wynik na dokładną masę odważonego materiału badanego, aby móc dokładnie porównać ze sobą wyniki pomiarowe.

Średnie wartości absorbancji uzyskane na podstawie trzech niezależnych pomiarów, zestawiono w tabelach razem z obliczonymi zawartościami kwasów humusowych oraz odchyleniem standardowym wyników. Dodatkowo umieszczono w nich podział na rodzaj pobranego materiału i numerację wszystkich próbek w celu łatwiejszego usystematyzowania danych.

Obliczone wyniki z próbek środowiskowych z punktu poboru oznaczonego wcześniej jako A, umieszczono w **Tabeli 2**.

Tabela 2. Wyniki pomiarów absorbancji próbek środowiskowych pobranych z miejsca A wraz z przeliczoną zawartością kwasów humusowych na 1 g próbki wraz z odchyleniem standardowym (SD).

Numer próbki	Rodzaj próbki	Absorbancja (średnia dla n = 3)	Zawartość HAs [mg/g]	Średnia zawartość HAs [mg/g]	SD [mg/g]
1	Mech	0.249	35.05	35.02	6.67
2	Mech	0.305	41.67		
3	Mech	0.199	28.33		
4	Kora	0.771	55.37	29.32	22.93
5	Kora	0.285	20.44		
6	Kora	0.173	12.17		
7	Gleba	0.252	36.18	33.71	8.30
8	Gleba	0.279	40.49		
9	Gleba	0.175	24.45		

Po dokładniejszej analizie, można dostrzec podobne zawartości kwasów humusowych w różnych rodzajach próbek. Pomimo małych różnic, zauważalne jest to, iż w mchu, średnia zawartość kwasów humusowych, przeliczona na 1 g próbki, jest największa, natomiast najmniejszą można znaleźć w korze. W przypadku próbek kory drzewnej obliczone odchylenie standardowe jest bardzo wysokie w stosunku do samych zawartości, przez co otrzymane wyniki nie są w pełni wiarygodne.

W **Tabeli 3** umieszczono pomiary próbek z miejsca oznaczonego punktem B.

Tabela 3. Wyniki pomiarów absorbancji próbek środowiskowych pobranych z miejsca B wraz z przeliczoną zawartością kwasów humusowych na 1 g próbki oraz odchyleniem standardowym (SD).

Numer próbki	Rodzaj próbki	Absorbancja (średnia dla n = 3)	Zawartość HAs [mg/g]	Średnia zawartość HAs [mg/g]	SD [mg/g]
10	Mech	0.393	54.77	62.91	8.46
11	Mech	0.504	71.65		
12	Mech	0.447	62.33		
13	Kora	0.300	21.57	30.54	11.84
14	Kora	0.612	43.96		
15	Kora	0.378	26.09		
16	Gleba	0.421	124.60	130.61	5.37
17	Gleba	0.465	134.94		
18	Gleba	0.460	132.28		

Próbki porównane ze względu na ich rodzaj z miejsca B, wykazują inną zależność niż w punkcie A. Różnice między zawartościami są znacząco większe. Podobną zależność można jednak dostrzec przy wynikach próbki kory drzewnej, gdzie odchylenie standardowe jest stosunkowo wysokie w porównaniu do wyniku średniej zawartości kwasów humusowych.

Tabela 4 przedstawia odczyty z próbek pobranych z miejsca numer C.

Tabela 4. Wyniki pomiarów absorbancji próbek środowiskowych pobranych z miejsca C wraz z przeliczoną zawartością kwasów humusowych na 1 gram próbki oraz odchyleniem standardowym (SD).

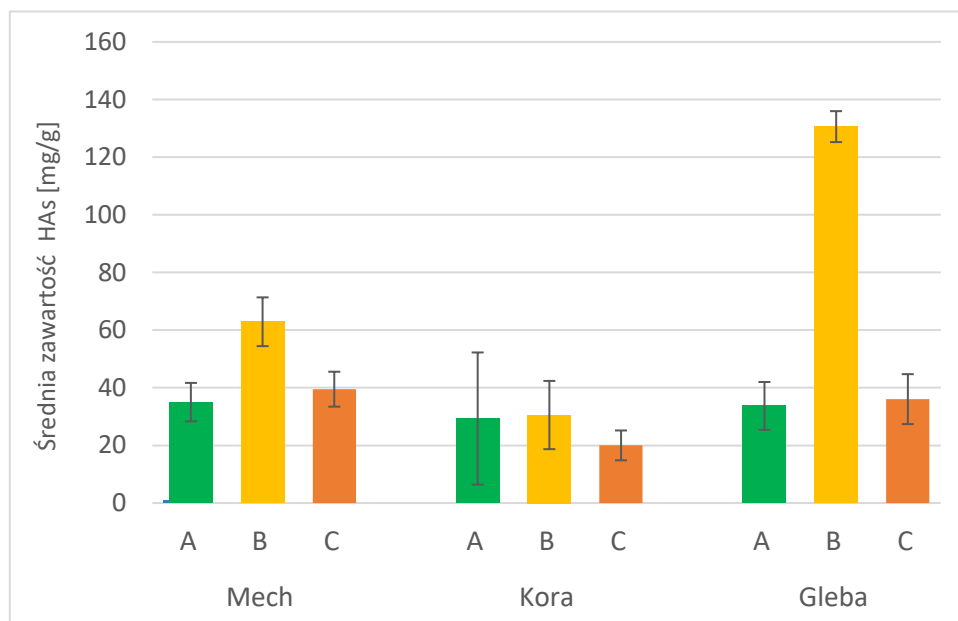
Numer próbki	Rodzaj próbki	Absorbancja (średnia dla n = 3)	Zawartość HAs [mg/g]	Średnia zawartość HAs [mg/g]	SD [mg/g]
19	Mech	0.302	42.55	39.51	6.06
20	Mech	0.302	43.45		
21	Mech	0.226	32.54		
22	Kora	0.219	14.70	20.01	5.18
23	Kora	0.288	20.27		
24	Kora	0.366	25.06		
25	Gleba	0.235	33.12	36.07	8.66
26	Gleba	0.198	29.28		
27	Gleba	0.167	45.83		

Obliczone wyniki są najbardziej zbliżone do wyników umieszczonych w **Tabeli 2**. Wyniki uzyskane z tego miejsca są najbardziej stabilne spośród wszystkich, wskazując, że największa zawartość kwasów humusowych występuje w mchu, następnie w glebie, a najmniejsza w korze.

Analizując wyniki pomiarów ze względu na rodzaj pobieranego materiału, można zauważyć jak wielki jest wpływ terenu i jego ukształtowanie na zawartość kwasów humusowych. W dwóch wybranych lokalizacjach (A i C), próbki charakteryzowały się taką samą zależnością: mech zawierał się najwyższą ilością badanych kwasów humusowych, natomiast kora najniższą. W miejscu A pomiary kory drzewnej odznaczyły się wysokim odchyleniem standardowym, przez co nie są tak wiarygodne jak pozostałe pomiary. Można zauważyć jednak, iż im wyższe stężenie kwasów humusowych w glebie tym większe stężenie również w korze i mchu.

3.2. Wyznaczanie zawartości kwasów humusowych z podziałem na rodzaj pobranej próbki

Otrzymane wyniki zestawiono na **Rysunku 4**, przedstawiającym wykres zawartości kwasów humusowych z podziałem na rodzaj pobranego materiału w celu przejrzystego przedstawienia danych oraz zależności między nimi. Ponieważ w każdym z badanych miejsc pobrano próbki wszystkich typów materiałów środowiskowych, możliwe było dokonanie ich ilościowego porównania.



Rysunek 4. Wykres przedstawiający zestawienie zawartości kwasów humusowych w próbkach środowiskowych z podziałem na miejsca poboru (patrz Rysunek 2 i Tabela 1).

Największe ilości kwasów humusowych można było zaobserwować w mchu pochodzącym z miejsca oznaczonego na mapie jako B. Zawartość mierzonych kwasów w punktach A i C są ze sobą porównywalne. Co więcej ich odchylenie standardowe również posiada podobną wartość, więc wskazuje to na bardziej wiarygodne wyniki pomiarowe. W miejscu oznaczonym literą B, najłatwiej było pobrać jak największą ilość mchu, ponieważ teren zaznaczonej lokalizacji był najbardziej zalesiony.

Największą zawartość kwasów humusowych wykazuje kora z miejsca B (podobnie jak przy próbce mchu). Wysoki wynik również zbadano w przypadku kory z miejsca A. Miejsca te są podobne pod względem poziomu zalesienia, co mogło być powodem wskazania podobnych wartości. Lokalizacja oznaczona literą C, jest terenem najmniej zalesionym, a najbardziej odsłoniętym na działanie promieni słonecznych.

Bardzo wysoką zawartość kwasów humusowych w próbce, znaleziono w miejscu oznaczonym literą B, co potwierdzałyby poprzednie analizy. Dodatkowo, tak wysoki wynik potwierdza stosunkowo niskie odchylenie standardowe, przez co wynik jest bardziej wiarygodny. Pomimo tak wyraźnego odskoku zawartości kwasów w próbce pobranej z lokalizacji B, reszta wyników przedstawia się stabilnie, potwierdzając poprzednio wykazane zależności. Na obecność dużej ilości kwasów humusowych w glebie w miejscu pomiarowym B, mogła mieć również jej wilgotność. Jako że jest to teren wysoce zalesiony oraz mało nasłoneczniony, wilgotność gleby była większa niż w innych lokalizacjach. Ten parametr również mógł mieć wpływ na otrzymane wyniki.

Jak można zauważyć porównując ze sobą powyższe wyniki, największą ilość kwasów humusowych w każdym z rodzajów pobranego materiału roślinnego, można znaleźć w lokalizacji oznaczonej literą B. Jest to miejsce położone najbardziej na północ spośród wszystkich zbadanych, co znacząco może wpływać na zawartość kwasów humusowych, w szczególności w przypadku mchu. Co więcej jest to teren bardzo zalesiony. Miejsce A natomiast, znajduje się przy osadniku Zakładów Górniczo-Hutniczych Bolesław, czyli przy hałdach pokopalnianych zawierających metale ciężkie. Lokalizacja o literze C jest miejscem najbardziej nasłonecznionym z najmniejszą ilością otaczających drzew, co również mogło wpłynąć na wilgotność terenu. Spośród materiałów kora drzewna wykazuje się najmniejszymi stężeniami kwasów humusowych we wszystkich miejscach pomiarowych, lecz jest to najpewniej spowodowane tym, że kora nie ma bezpośredniego kontaktu z glebą. Z łatwością można

zauważyć korelację, że im wyższe stężenie kwasów humusowych w glebie, tym wyższe stężenie również w korze i mchu.

4. Wnioski

Kwasy humusowe występują w każdym z badanych materiałów, lecz ich ilości są różne. Dzięki alkalicznej ekstrakcji kwasów humusowych oraz spektrofotometrii UV-Vis, oznaczono ich zawartość w próbkach środowiskowych takich jak: mech, kora drzewna i gleba w różnych lokalizacjach, znajdujących się na terenie Nadleśnictwa Olkusz.

Analiza wyników pokazała, że największa ilość kwasów humusowych została wykryta w glebie z miejsca oznaczonego na mapie numerem B. Jeśli chodzi o zależności pomiędzy rodzajem materiału a zawartością badanych kwasów, to zdecydowanie najmniej ich zawiera kora drzewna. Może być to spowodowane faktem, iż kora nie znajduje się bezpośrednio na ziemi oraz jest zewnętrzną warstwą tkanek, w związku z czym kwasy humusowe występują w mniejszych ilościach. Gleba i mech zawierają porównywalne ze sobą ilości badanego analitu, jednakże nie ma jednoznacznej zależności, gdzie jest go więcej. W pełni zależy to od terenu i otoczenia.

Gdy zostaną porównane ze sobą miejsca poboru, można z łatwością zauważyć, iż miejsce B jest najmniej zanieczyszczonym spośród badanych, co widać po najwyższej zawartości kwasów humusowych w każdym ze sprawdzanych materiałów. Najniższe stężenie kwasów humusowych zbadano w miejscu C w przypadku kory, lecz w miejscu A w przypadku gleby i mchu. Miejsce A zostało wybrane z powodu bardzo bliskiej odległości od osadnika i hałd pokopalnianych kopalni rudy cynku i ołowiu. Pomimo dużych różnic terenowych, miejsca oznaczone jako A i C nie są znacznie od siebie oddalone wartościami zawartości kwasów humusowych we wszystkich rodzajach próbek.

Literatura

- [1] A. M. Anielak, Kwasy humusowe. Ekstrakcja, analiza i znaczenie w środowisku oraz metody ich usuwania, *Przemysł chemiczny* 10 (2019) 1580
- [2] M. Huculak-Mączka, M. Braun, J. Hoffmann, K. Hoffmann, Badania nad możliwością ekstrakcji substancji humusowych z wybranych surowców, *Przemysł chemiczny* 10 (2018) 1680
- [3] S. Kowaliński, S. Gonet, *Materia organiczna gleb*, w: S. Zawadzki, *Gleboznawstwo*, Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Warszawa 1999
- [4] Krupińska, I. (2012) Problemy związane z występowaniem substancji humusowych w wodach podziemnych. *Zeszyty Naukowe. Inżynieria Środowiska/Uniwersytet Zielonogórski*, str. 55-72
- [5] <https://www.humintech.com/agriculture/information/what-are-humic-acids> (odwiedzona 26.11.2024)
- [6] W. W. Kubiak et al., *Instrumentalne metody analizy chemicznej*. Kraków: Wydawnictwo Naukowe AKAPIT, 2005
- [7] W. Szczepaniak, *Metody instrumentalne w analizie chemicznej*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 1997
- [8] <http://humic-substances.org/> (odwiedzona 27.11.2024)
- [9] <https://olkusz.katowice.lasy.gov.pl/> (odwiedzona 27.11.2024)