

TADEUSZ KARDASZ, ELIGIUSZ ROSZYK¹

MODYFIKACJA SPOSOBU MINERALIZACJI SUBSTANCJI ORGANICZNEJ NA MOKRO DO OZNACZENIA AZOTU CAŁKOWITEGO

Centralny Ośrodek Metodyczno-Naukowy IUNG we Wrocławiu
Instytut Chemii Rolniczej, Gleboznawstwa i Mikrobiologii
Akademii Rolniczej we Wrocławiu

Rozkład substancji organicznej na mokro, szeroko stosowany w praktyce analitycznej [3, 4], należy w dalszym ciągu do pracochłonnych i uciążliwych etapów oznaczania składu chemicznego roślin.

Przy oznaczaniu zawartości azotu całkowitego stosowany jest w kraju przeważnie sposób mineralizacji podany przez Kjeldahla z szeregiem jego modyfikacji. Sposób ten wymaga przygotowania odpowiednich pomieszczeń i stanowisk pracy oraz posiadania odpowiedniego sprzętu. Częstokroć w zależności od mineralizowanego materiału jest procesem pracochłonnym.

W przedstawionej przez autorów modyfikacji mokrego rozkładu substancji organicznej wykorzystano zaproponowaną przez L e n g e r k e n a i współautorów kolejność dodawania substancji utleniających [2]. Niniejsza modyfikacja znacznie skraca czas mineralizacji, jest mniej uciążliwa, a jednocześnie oszczędniejsza w zużyciu szkła i odczynników.

Przeprowadzone przez autorów badania metodyczne nad usprawnieniem tego etapu analizy doprowadziły do opracowania dwóch sposobów mineralizacji.

Sposób I. 0,250 g rozdrobnionego (poniżej 1 mm), powietrznie suchego materiału roślinnego przenosi się do kolbki stożkowej z szeroką szyjką o pojemności 100 ml, zadaje 2 ml 30% H_2O_2 , a następnie 3 ml stężonego H_2SO_4 . Reakcja przebiegająca bardzo energicznie w pierwszej fazie ustaje po około 30 sekundach. Roztwór w kolbce (często klarowny i bezbarwny) ustawia się na elektrycznej płycie grzejnej o temperaturze wrzenia stężonego kwasu siarkowego. Po krótkotrwałym wrzeniu roz-

¹ W badaniach brały udział: inż. E. Gudź, M. Łuszczacka i M. Parużyńska.

twór przyjmuje zabarwienie od żółtego do ciemnobrunatnego. W momencie wystąpienia zabarwienia, nie zdejmując kolbki z płyty grzejnej, dodaje się około 50 mg mieszaniny selenowej według Wienigera, utrzymując zawartość kolbki w stanie wrzenia aż do momentu uzyskania klarownego, bezbarwnego roztworu. Przy zachowaniu wymienionych warunków całkowita mineralizacja próbki trwa około 15 minut.

S p o s ó b II. Pierwsza faza mineralizacji jest analogiczna jak w sposobie I. Po ustawieniu kolbki na płycie grzejnej utrzymuje się jej zawartość w stanie wrzenia przez 5 minut. Po tym czasie kolbkę zdejmuje się do lekkiego ochłodzenia i do gorącego jeszcze roztworu dodaje się 1 ml 30% H_2O_2 , po czym ponownie ustawia się na płycie grzejnej, utrzymując zawartość w stanie wrzenia przez około 10 minut do chwili uzyskania roztworu klarownego i bezbarwnego.

W przypadku obu proponowanych sposobów czynnikami w istotny sposób wpływającymi na przebieg reakcji i uzyskiwane wyniki są:

- dobór kolbki odpowiedniej formy i objętości do przeprowadzania mineralizacji małych ilości materiału roślinnego,
- zachowanie właściwej proporcji między ilością mineralizowanej substancji organicznej i dodawanymi odczynnikami,
- kolejność stosowanych odczynników,
- dodatek w odpowiedniej fazie rozkładu mineralizowanej substancji katalizatora lub utleniacza,
- prawidłowe rozdrobnienie analizowanego materiału roślinnego.

WYNIKI BADAŃ

Do badań porównawczych użyto 46 próbek roślin uprawnych i pasz, różnicowanych pod względem zawartości oznaczanego składnika.

We wszystkich próbkach azot całkowity oznaczano dwoma opisanymi modyfikacjami (zwanymi dalej I i II) oraz tradycyjnym stosowanym w laboratoriach chemiczno-rolniczych w kraju (1 g próbki + mieszanina selenowa + stężony kwas siarkowy), zwanym dalej sposobem T. Azot oznaczano sposobem miareczkowym po destylacji.

Uzyskane wyniki analityczne (tab. 1) wskazują na dobrą zgodność porównywanych sposobów mineralizacji. Wartości średnie uzyskane dla wszystkich przeanalizowanych próbek wynosiły odpowiednio dla sposobów T=2,36; I=2,34 i II=2,34. Oba porównywane sposoby mineralizacji były istotnie dodatnio skorelowane ze sposobem tradycyjnym (rys. 1 i 2).

Mając na uwadze różnicowany skład chemiczny analizowanego materiału, co zdaniem niektórych autorów [1] może wpływać na szybkość procesu mineralizacji, uszeregowano badany materiał w poszczególne grupy. Porównując uzyskane przy zastosowaniu omawianych sposobów mineralizacji wartości średnie (tab. 2) jedynie w przypadku roślin oko-

Tabela 1

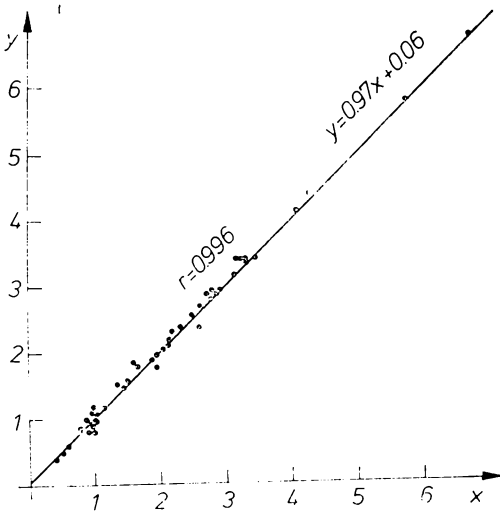
Zawartość azotu %/ oznaczona po mineralizacji różnymi sposobami
 Nitrogen content determined after the mineralization by various methods /N in %/

Roślina - Plant	Sposób T T method	Sposób I Method I	Sposób II Method II
ziarno - grain			
pszenicy - of wheat	2,07	2,07	2,01
jęczmienia - of barley	1,53	1,62	1,57
żyta - of rye	1,48	1,51	1,48
owsa - of oats	1,64	1,65	1,79
grochu - of peas	3,36	3,27	3,30
peluszek - of maple peas	4,13	4,06	4,08
bobiku - of horse beans	4,74	4,59	4,56
rzepaku - of rape	3,45	3,38	3,36
lubinu - of lupine	6,70	6,64	6,69
wyki - of vetch	5,66	5,49	5,49
kukurydzy - of maize	1,52	1,57	1,57
soi - of soya bean	5,83	5,77	5,71
siłosa - straw			
pszenicy - of wheat	0,91	0,92	0,87
jęczmienia - of barley	1,00	0,95	0,84
żyta - of rye	0,43	0,45	0,42
owsa - of oats	0,51	0,50	0,50
grochu - of peas	0,58	0,98	0,98
grochu - of peas	0,90	0,98	1,00
peluszek - of maple peas	1,97	1,87	1,79
bobiku - of horse beans	0,80	0,90	0,87
rzepaku - of rape	0,60	0,67	0,62
zielonki - green fodder			
pszenica - of wheat	4,36	4,37	4,31
jęczmień - of barley	2,90	2,91	2,86
kukurydza - of maize	0,96	0,92	0,92
siano - of hay	1,90	1,90	1,90
koniczyna - of clover	2,66	2,69	2,69
lucerna - of alfalfa	4,06	3,95	3,92
pszenica - of wheat	2,91	2,91	2,91
pszenica - of wheat	2,34	2,32	2,35
pszenica - of wheat	1,66	1,54	1,54
susz z zielonek - of dried green fodder	2,12	2,13	2,10
okopowe - root crops			
kłąby ziemniaków - potato tubers	1,02	1,00	0,98
korzenie buraków - beet roots	0,92	0,78	0,84
kłąby ziemniaków - potato haulms	1,02	0,98	1,06
liście buraków - beet leaves	2,64	2,47	2,35
warzywa - vegetables			
korzenie porów - leek roots	1,72	1,85	1,79
liście porów - leek leaves	2,25	2,30	2,30
cebula - onion	1,98	1,98	1,96
szczyptor cebuli - onion leaves	1,16	1,12	1,18
kapusta - cabbage	3,18	3,14	3,14
owoce pomidorów - tomato fruits	2,16	2,16	2,16
pasze - fodders			
mieszanka "B" - "B" mixture	3,43	3,36	3,38
mieszanka "C" - "C" mixture	2,80	2,83	2,82
mieszanka "L" - "L" mixture	2,78	2,88	2,82
mieszanka "T" - "T" mixture	2,83	2,86	2,91
mieszanka "DK" - "DK" mixture	2,54	2,54	2,54

T a b e l a 2

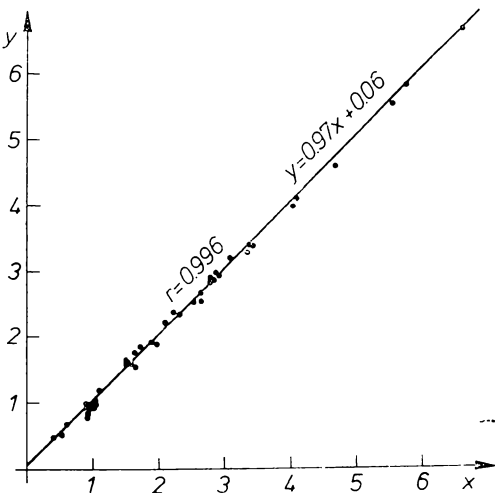
Zawartość azotu całkowitego w poszczególnych grupach roślin
oznaczona po mineralizacji różnymi sposobami /N w %/
Total nitrogen content in particular plant groups determined after
mineralization by various methods /N in %/

Materiał - Material	Liczba próbek Number of samples	Sposób T T method	Sposób I Method I	Sposób II Method II	Sposób T = 100 T method = 100	
					sposób I method I	sposób II method II
Ziarno - Grain	12	3,51	3,47	3,47	99	99
Słoma - Straw	9	0,90	0,91	0,88	101	98
Zielonki - Green fodder	10	2,59	2,57	2,55	99	98
Okopowe - Root crops	4	1,40	1,31	1,31	94	94
Warzywa - Vegetables	6	2,07	2,09	2,08	101	100
Pasze - Fodders	5	2,88	2,89	2,90	100	101



Rys. 1. Korelacja między sposobami mineralizacji materiału roślinnego (T i I)

Correlation between particular plant material mineralization methods (T and I)



Rys. 2. Korelacja między sposobami mineralizacji materiału roślinnego (T i II)

Correlation between particular plant material mineralization methods (T and II)

powych stwierdzono nieco niższą zawartość (średnio o 6⁰%) dla sposobów I i II w porównaniu z tradycyjnym.

Nie stwierdzono natomiast między porównywanymi sposobami mineralizacji w poszczególnych przedziałach zawartości azotu różnic większych od 2⁰ (tab. 3).

T a b e l a 3

Zawartości średnie w przedziałach N-całkowitego oznaczonego sposobem tradycyjnym w %
Mean content of total nitrogen in particular intervals by the traditional method, in %

Przedział zawartości N w % Interval of the N content, in %	Liczba próbek Number of samples	Sposób mineralizacji Mineralization method		
		T	I	II
do 1,00 to 1,00	10	0,80	0,80	0,79
1,01 - 2,00	12	1,55	1,55	1,55
2,01 - 3,00	13	2,51	2,49	2,48
od 3,01 from 3,01	11	4,44	4,36	4,36

T a b e l a 4

Zawartości średnie azotu całkowitego i wahania /n = 10/
Mean total nitrogen content and its fluctuations /n = 10/

Roślina - Plant	Wartości średnie w % Mean values in %			Wahania w wartościach względnych Fluctuations in relative values		
	sposób T T method	sposób I method I	sposób II method II	sposób T T method	sposób I method I	sposób II method II
Ziarno pszenicy wheat grain	2,06	2,08	2,00	94 - 102	97 - 105	95 - 103
Siano lucerny alfalfa hay	4,05	3,94	3,93	97 - 103	98 - 102	98 - 102
Liście buraków beet leaves	2,64	2,49	2,36	99 - 101	99 - 102	97 - 102
Korzenie buraków beet roots	0,92	0,76	0,84	95 - 103	95 - 103	100 - 106
Kłębki ziemniaków potato tubers	1,01	0,98	0,97	98 - 104	97 - 102	98 - 103

W pięciu wybranych próbkach roślinnych oznaczono w 10 powtórzeniach zawartość azotu po mineralizacji trzema porównywanymi sposobami (tab. 4). Wahania oznaczeń w poszczególnych roślinach niezależnie od sposobu mineralizacji nie przekraczały 5⁰o.

PODSUMOWANIE

Przedstawione wyniki analityczne dowodzą, że przy zastosowaniu zmodyfikowanego sposobu mineralizacji uzyskano takie same bądź zbliżone zawartości azotu całkowitego w analizowanym materiale roślinnym. Godne podkreślenia jest lepsze wykorzystanie powierzchni roboczej w laboratorium, wydatne zmniejszenie emisji gazowych produktów rozkładu substancji organicznej i kwasu siarkowego w najbliższym otoczeniu stanowiska pracy, eliminacja w niektórych próbkach (szczególnie o wyższej zawartości tłuszczu) zjawiska pienienia w czasie mineralizacji, przede wszystkim jednak krótki czas mineralizacji próbki wynoszący około 15 minut.

Z tych względów wydaje się, że oba zmodyfikowane sposoby mineralizacji substancji organicznej nadają się szczególnie do analiz seryjnych.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Koch O. G., Koch-Dedic G. A.: Handbuch der Spurenanalyse Springer Verlag, Berlin 1974.
- [2] Lengerken J., Müller V., Wetterau H.: Rationalisierung des Kjeldahl-Aufschlusses zur Rohprotein- bzw. Stickstoff Bestimmung. Die Nahrung 18, 1974, 551.
- [3] Schillak R.: Oznaczenie składników mineralnych w materiałach roślinnych. I. Mineralizowanie materiału roślinnego i roztwór podstawowy. Roczn. Nauk rol. 92—A—2, 1966, 265.
- [4] Schillak R.: Metody badań laboratoryjnych w Stacjach Chemiczno-Rolniczych. Cz. II. Badanie materiału roślinnego. Wyd. IUNG, Puławy 1972.

Т. КАРДАШ, Е. РОШЫК

МОДИФИКАЦИЯ СПОСОБА МОКРОГО ОЗОЛЕНИЯ ОРГАНИЧЕСКОГО
ВЕЩЕСТВА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОБЩЕГО АЗОТА

Научно-методический центр Института агротехники, удобрения и почвоведения
во Вроцлаве
Институт агрохимии, почвоведения и микробиологии,
Сельскохозяйственная академия во Вроцлаве

Резюме

Описаны два способа быстрой минерализации растительного материала для определения азота, при сравнении данных со способом применяемым в стране в настоящее время.

Способ I-й. 0,250 г размельченного (ниже 1 мм) воздушно сухого растительного материала переносят в конические колбы с широкой горлышкой, объемом 100 мл, приливают 2 мл 30-процентного H_2O_2 , а затем 3 мл концентрированной H_2SO_4 . Реакция протекающая в начальной фазе очень бурно приостанавливается спустя около 30 секунд. Раствор в колбе (часто прозрачный и бесцветный) помещают на электрическую плитку нагретую до температуры кипения концентрированной серной кислоты. После кратковременного кипячения раствор при-

обретает окраску от желтой по темнокоричневую. В момент выступления окраски, не снимая колбы с нагревательной плитки, добавляют около 50 мг селеновой смеси по Венигеру и кипятят содержимое колбы пока оно не станет прозрачным и совершенно не обесцветится. При соблюдении вышеприведенных условий полная минерализация пробы продолжается около 15 минут.

Способ 2-й. Первая фаза минерализации аналогична как при 1-м способе. После помещения колбы на нагревательной плитке умеренно кипятят ее содержимое в течение 5 минут. Затем колбы снимают для ее легкого охлаждения и к горячему еще раствору добавляют 1 мл 30-процентного H_2O_4 , потом снова ставят на нагревательную плитку, продолжая кипячение в течение 10 минут до момента получения прозрачного и бесцветного раствора.

В предлагаемых способах факторами влияющими существенным образом на ход реакции и получаемые результаты являются:

- подбор колбы соответственной формы и объема для минерализации малых количеств растительного материала.
- соблюдение надлежащих пропорций между количеством минерализуемого органического вещества и прибавляемыми реактивами,
- очередность применения реактивов,
- прибавка катализатора или окислителя в соответствующей фазе разложения минерализованного вещества.
- правильное размельчение анализируемого растительного материала.

T. KARDASZ, E. ROSZYK

MODIFICATION OF WET MINERALIZATION OF ORGANIC MATTER FOR THE TOTAL NITROGEN DETERMINATION

Methodico-Scientific Centre, Institute of Soil Science and Cultivation of Plants
Department of Agricultural Chemistry, Soil Science and Microbiology
College of Agriculture in Wrocław

Summary

Two new methods of a quick plant material mineralization, aiming at the nitrogen determination, are described, at their comparison with the method applied for the time being in this country.

Method I. 0.250 g of crushed (to less than 1 mm) air-dry plant material is transferred into a conical flask with wide neck, of 100 ml capacity, 2 ml of 30% H_2O_2 and then 3 ml of concentrated H_2SO_4 are added. The reaction running very intensively at the first stage ceases after about 30 seconds. The solution in the flask (often clear and colourless) is set up on an electric heating plate with the boiling temperature of concentrated sulphuric acid. Upon a short boiling, the solution assumes the colour changing from yellow to dark-brown. At the moment of occurrence of this colour, about 50 mg of selenic mixture after Wieniger are added, not taking the flask off the heating plate, while keeping the contents of the flask boiling till the moment when the solution becomes clear and colourless.

Method II. The first mineralization stage is analogous to that of the method I. Upon setting up the flask on the heating plate, its contents is kept boiling for 15 minutes. Then the flask is taken off, slightly cooled and to the solution still hot 1 ml of 30% H_2O_2 is added; thereupon the flask is set up anew on the heating plate while keeping the solution boiling for about 10 minutes till the moment when it becomes clear and colourless.

In case of both methods proposed, factors affecting significantly the reaction course and the results obtained are:

- choice of an appropriate form and capacity of the flask for mineralization of small plant material amounts,
- maintaining an appropriate relation between the amount of the organic matter mineralized and the added reagents,
- succession of the reagents applied,
- addition of catalyst or oxidizer at an appropriate stage of the mineralized matter decomposition,
- a correct crushing of the plant material analyzed.

Under existing conditions the total mineralization will be achieved in about 15 minutes.

Mgr Tadeusz Kardasz
Centralny Ośrodek
Metodyczno-Naukowy IUNG
Wrocław, Plac Engelsa 5