

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

DIPLOMOVÁ PRÁCE

System hodnocení půdních organických látek na základě frakcionace dle
stupně hydrofilních vlastností a charakterizací frakcí využitím diferenční
termické analýzy

EDUARD STROSSER

ČESKÉ BUDĚJOVICE
2008

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma: **Systém hodnocení půdních organických látek na základě frakcionace dle stupně hydrofilních vlastností a charakterizací frakcí využitím diferenční termické analýzy** vypracoval samostatně, pod vedením vedoucího práce Prof. Ing. Stanislava Kužela, CSc. a konzultanta Prof. Ing. Ladislava Koláře Dr.Sc. a uvedl v seznamu literatury všechny použité literární vědecké a odborné zdroje.

České Budějovice, duben 2008

Poděkování:

Děkuji Zdroji Života za zkušenost, kterou jsem díky této práci získal. Děkuji svým rodičům za podporu po celou dobu studia. Dále bych chtěl poděkovat vedoucímu diplomové práce panu Prof. Ing. Stanislavu Kuželovi, CSc za metodické vedení a všestrannou pomoc při zpracovávání této práce a konzultantovi panu Prof. Ing. Ladislavu Kolářovi Dr.Sc. za velmi cenné rady a doporučení pro mou práci a prohloubení mých znalostí v oboru. Rovněž děkuji paní Ing. Věře Čechové za analytickou pomoc při stanovení tak objemného množství vzorků C_{ox} v půdě. Nakonec bych chtěl poděkovat všem kolegům a lidem, kteří mi pomohli, byť sebemenším způsobem, ale nemohu je zde všechny jmenovitě uvést, neboť bych nerad na někoho zapomněl.

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Jméno a příjmení: **Eduard STROSSER**

Studijní program: **M4101 Zemědělské inženýrství**

Studijní obor: **Provozně podnikatelský obor**

Název tématu: **Systém hodnocení půdních organických látek na základě frakcionace dle stupně hydrofilních vlastností a charakterizací frakcí využitím diferenční termické analýzy.**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

(v zásadách pro vypracování uveďte cíl práce a metodický postup)

Cílem práce je navrhnout systém hodnocení půdních organických látek na základě jejich sekvenční frakcionace různými extrahovadly dle stupně jejich hydrofilních vlastností na základě jejich charakteristik získaných z diferenční termické analýzy.

Proveďte literární rešerši na téma: a) Organické látky půdy; b) Metody extrakce půdních organických látek; c) Hodnocení kvality půdních organických látek; d) Diferenční termická analýza a její použití k charakteristice půdních organických látek

Proveďte laboratorní analýzy v souladu s navrženou metodikou sekvenční frakcionace půdních organických látek. Charakterizujte Vámi získané frakce metodou diferenční termické analýzy. Na základě získaných výsledků navrhnete systém hodnocení půdních organických látek.

Diplomovou práci vypracujte v souladu s materiálem „Obecné zásady pro vypracování diplomové práce“

Rozsah grafických prací: dle potřeby

Rozsah průvodní zprávy: cca 50 stran

Seznam odborné literatury:

Sotáková S. (1982): Organická hmota a úrodnost' půdy. Příroda Bratislava, 232 s.

Kolář L. a kol. (2003): A method to determine mineralization kinetics of a decomposable part of soil organic matter in the soil. Plant Soil Environ., 49 (1): 8-11.

Kolář L. a kol. (2005): The use of Spectroquant Merck BOD photometric test to evaluate the stability of organic matters in soil. Plant Soil Environ., 51 (1): 46-50.

Kolář L. a kol. (2004): Srovnání transformace půdního uhlíku pod travním drnem a v orné půdě. Collection of Scientific Papers, Faculty of Agriculture in České Budějovice, Series for Crop Sciences 21, (4): 369-373.

Pospíšil F. (1980): Obsah a složení humusu v půdách v českých zemích. Studie ČSAV, č.14, 89 s.

Vedoucí diplomové práce: prof. Ing. Stanislav Kužel, CSc.

Konzultant: prof. Ing. Ladislav Kolář, DrSc.

Datum zadání diplomové práce: 1. března 2006

Termín odevzdání diplomové práce: 30. dubna 2008

L.S.

prof. Ing. Magdalena Hrabánková, CSc.
děkanka

prof. Ing. Jan Moudrý, CSc.
vedoucí katedry

V Českých Budějovicích dne 1. března 2006

Souhrn

Současné metody hodnocení půdních organických látek nedostatečně charakterizují jejich stabilitu či labilitu. Cílem práce je navrhnout metodu hodnocení stability půdních organických látek. Odkoušeny byly čtyři odlišné metody z nichž dvě jsou založeny na chemickém principu a dvě na mikrobiologickém. První metoda je založena na sekvenční frakcionaci půdní organické hmoty systémem rozpouštědel se vzrůstající polaritou, druhá využívá k rozdělení frakcí půdní organické hmoty oxidovadlo s různou oxidační silou. Ve třetí metodě je organická hmota odbourávána mikroorganismy v anaerobním prostředí, stejně jako u čtvrté metody, ale tato navíc využívá aparaturu pro měření vyprodukovaného plynu. Ukázalo se, že metoda sekvenční extrakce není vhodná pro praktické použití, z obou chemických metod je výhodnější postupná oxidace. Z metody postupné oxidace i obou anaerobních metod vyplývá, že k rozkladu nejdůležitější části půdní organické hmoty dochází velmi rychle, resp. již při použití slabého oxidovadla. Tato frakce je pro hodnocení rozložitelnosti nejdůležitější a je pro jednotlivé půdy charakteristická. Po rozložení této části SOM se její zbytek rozkládá pomalu a lineárně nebo použité mikroorganismy nejsou schopny ji již dále rozkládat.

Klíčová slova: půdní organické látky, anaerobní podmínky, oxidace, extrakce, rozklad

Abstract

The contemporary methods of evaluation of the soil organic matter do not sufficiently characterize its stability. The aim of this study is to develop a method for soil organic matter stability evaluation. The four different methods were tested, two based on chemical principle and two on microbiology principle. The first method is based on sequential soil organic matter fractionation by a system of solvents with increasing polarity, the second method uses oxidizers with different oxidizing efficiency. In the third method micro-organisms decompose soil organic matter in anaerobic environment as well as in the fourth method, but this one makes use of up gas production measuring sensors. The method of sequential extraction is not suitable for practical use, the oxidation method is preferred. The oxidation method also both microbiology methods imply that the most important part of soil organic matter is decomposed rapidly or while using weak oxidizer. This fraction is the most important for evaluation decomposability and it is characteristic for particular soils. After decomposition of this part of SOM its remnant is decomposed steady and linear or micro-organisms are not able to decompose it.

Key words: soil organic matter, anaerobic environment, oxidation, extraction, decomposition

OBSAH

1 ÚVOD	9
2 CÍL PRÁCE	10
3 TEORETICKÁ ČÁST	11
3.1 PŮDNÍ ORGANICKÁ HMOTA	11
3.1.1 Půdní organická hmota	11
3.1.2 Třídění organických látek v půdě	12
3.1.2.1 Organické látky v půdě	13
3.1.2.2 Půdní organická hmota	13
3.1.2.3 Primární organickou hmotu	13
3.1.2.4 Humusové látky (humus)	14
3.2 HISTORIE ZKOUMÁNÍ PŮDNÍ ORGANICKÉ HMOTY	18
3.3 METODY ANALÝZY PŮDNÍ ORGANICKÉ HMOTY	18
3.3.1 Stanovní oxidovatelného uhlíku C_{ox}	19
3.3.2 Stupeň humifikace	19
3.3.3 Poměr huminových kyselin a fulvokyselin HK:FK	20
3.3.4 C_{hws}	20
3.3.5 C_{cws}	20
3.3.6 Barevný kvocient Q4/6	20
3.3.7 Respirační metody	21
3.3.8 Současný stav v problematice zkoumání labilní půdní organické hmoty	22
4 PRAKTICKÁ ČÁST	25
4.1 METODIKA	25
4.1.1 Metodika sekvenční extrakce	25
4.1.2 Upravená metodika sekvenční extrakce	26
4.1.3 Metoda postupné oxidace organických látek	27
4.1.4 Metoda rozložitelnosti půdní organické hmoty v anaerobním prostředí (dále jen „anaerobní rozklad“)	28
4.1.5 Metoda rozložitelnosti organické hmoty v anaerobním prostředí s měřicí aparaturou OXI TOP CONTROL (dále jen „OXI TOP CONTROL“)	29
4.1.6 Metodika stanovení oxidovatelného uhlíku (C_{ox})	31
4.1.7 Diferenční termická analýza (DTA)	32
4.1.7.1 Základní princip DTA	32

4.1.7.2 Přístroj LABSYS – TGA – DTA	34
4.2 VÝSLEDKY a DISKUZE.....	35
4.2.1 Metoda sekvenční extrakce.....	35
4.2.2 Upravená metoda sekvenční extrakce	37
4.2.2.1 Vyhodnocení DTA.....	38
4.2.3 Metoda postupné oxidace.....	39
4.2.3.1 Grafické vyjádření stability půdní organické hmoty.....	42
4.2.3.2 Vyhodnocení DTA.....	48
4.2.4 Metoda anaerobního rozkladu.....	49
4.2.5 Metoda OXI TOP CONTROL.....	53
4.2.6 Porovnání metod.....	55
5. ZÁVĚR.....	57
6. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	58
7. PŘÍLOHY.....	66
7.1 Graficky zpracované výsledky metody postupné oxidace.....	66
7.2 OXI TOP CONTROL.....	70
7.3 Vyhodnocení frakcí DTA – metoda sekvenční extrakce.....	77
7.4 Vyhodnocení frakcí DTA – metoda postupné oxidace.....	79

1 ÚVOD

Organická hmota v půdě (SOM = soil organic matter) je většinou stále charakterizována jen hodnotou C_{ox} , i když je obecně známo, že C_{ox} vyjadřuje stejně tak primární organickou hmotu, tak zhumifikovanou. Proto je pokrokem, uvádí-li autoři další charakteristiky půdní organické hmoty, stupeň humifikace S_H , poměr HK:FK, „aktivní uhlík“ C_{hws} , C_{cws} (vodorozpustné C-látky při 20 C).

Labilní složkám primární organické hmoty je v současné době věnována značná pozornost, neboť jsou považovány za významný indikátor půdní kvality. Ke studiu rozložitelnosti labilní frakce primární organické hmoty je možno využít nejrůznějších metod, založených většinou na stabilitě vůči chemické nebo biologické oxidaci.

JČU se zabývá vývojem metody k stanovení kinetiky mineralizace rozložitelné SOM a stabilita této frakce je vyjadřována hodnotou rychlostní konstanty její biochemické oxidace (Kolář et al. 2003). Tato metoda byla doplněna o vztah poměru $BSK_5:CHSK$ k rychlostní konstantě biochemické oxidace (Kolář et al. 2005).

2 CÍL PRÁCE

Cílem práce je navrhnout systém hodnocení půdních organických látek na základě jejich sekvenční frakcionace různými extrahovadly dle stupně jejich hydrofilních vlastností na základě jejich charakteristik získaných z diferenční termické analýzy.

3 TEORETICKÁ ČÁST

3.1 PŮDNÍ ORGANICKÁ HMOTA

3.1.1 Půdní organická hmota

Půdní organická hmota je termín, který je popisován jako složitá, heterogenní frakce půdy skládající se z velkého množství různorodých organických látek, které vznikají chemickým a biologickým rozkladem a přeměnou z organických zbytků v půdě (Sotáková 1982). Protože za běžných okolností procesy vytvářející půdní organickou hmotu stále probíhají a do půdy jsou průběžně dodávány organické zbytky jako odumřelé části rostlin a živočichů, organická hnojiva, posklizňové zbytky atd. nacházejí se tyto látky v různém stupni rozkladu – od nerozložených až po zcela rozložené – a též na různém stupni přeměny – humifikace (Kawasaki et al. 2008). V procesu humifikace vzniká humus, který obsahuje vlastní humusové látky – huminové kyseliny, fulvokyseliny a huminy. Schematické třídění organických látek v půdě je uvedeno na obr. 1 (Drozd et al. 1997).

Organické látky, které tvoří organickou hmotu půdy, jsou ve stavu neustálé přeměny, který je určován charakterem organických látek samotných, činností půdních organismů (Ladd et al. 2004), střídáním podmínek (vlhkosti, teploty), půdní reakcí, oxidačně-redukčním režimem půdy, chemismem minerálních půdních frakcí, fyzikální strukturou (Liao et al. 2006) ale i změnami, ke kterým dochází v souvislosti s růstem vyšších rostlin. Tato přeměna má však zákonitý charakter, směřuje k rovnovážnému stavu, charakteristickému pro každý půdní typ.

Půdní organická hmota představuje sice jen malou část půdy, ale její význam pro půdní úrodnost je nezastupitelný. Přestože za uplynulá desetiletí byla uskutečněna řada výzkumných prací zabývajících se chemickým složením, fyzikálně-chemickou strukturou, biologickými funkcemi, minerálními agregáty a procesy, jimž tyto jevy podléhají, existuje stále jen málo informací o tom, jak se jednotlivé složky půdní organické hmoty uplatňují a jakou mají funkci. (Skjemstad 1998) Z ekologického hlediska plní půdní organická hmota úlohu prostředí pro vzájemnou koexistenci rostlin, půdních mikro- a makroorganismů a minerálů, a zajišťuje jejich vzájemnou látkovou a informační výměnu.

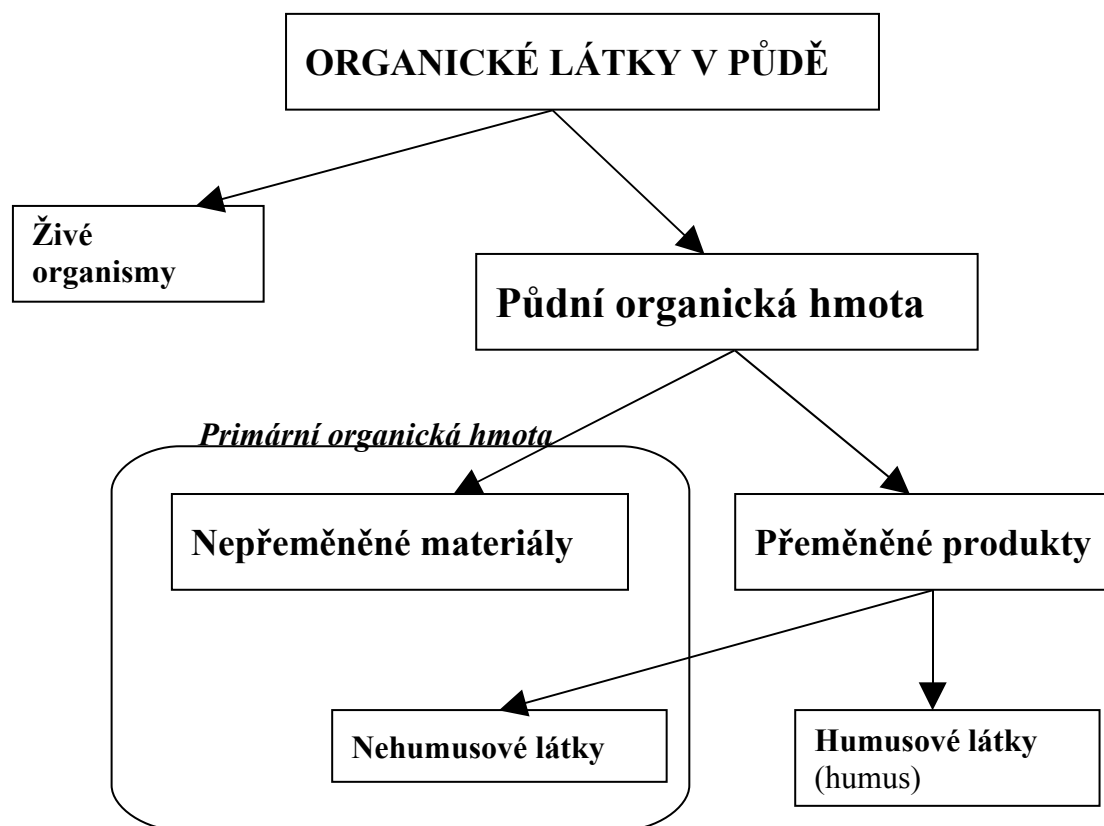
Zvyšující se počet obyvatel planety klade čím dál vyšší nároky na produkci potravin a tím i na zemědělské soustavy v mnoha částech světa (i když musíme upozornit na značné plýtvání potravinami v ekonomicky vyspělých státech) a často vede degradaci půdních zdrojů. Půdní organická hmota je hlavní prvek určující udržitelnost zemědělské produkce (Blair et al. 1995).

Půdní organická hmota představuje největší světový terestrický zdroj uhlíku a energie. Jeho množství vázané v půdě 2x - 3x převyšuje množství uhlíku vázaného v nadzemní biomase rostlin. Nejčastější odhad celkové světové zásoby organické hmoty v půd se pohybuje kolem hodnoty 1500 Gt C (= $1.5 \cdot 10^{18}$ g C). Hlavním zdrojem C v půdní organické hmotě jsou rostliny - primární producenti. Roční vstup C do půdy je odhadován na $37,5 \times 10^9$ g C. Organická hmota vstupující do půdy ve formě rostlinných zbytků a kořenových exsudátů je v půdě využívána půdními organismy jako zdroj C a energie, ale i jako zdroj živin – říká se, že vstupuje do detritového potravního řetězce (Šantrůčková et al. 2005).

3.1.2 Třídění organických látek v půdě

Názvosloví a třídění půdní organické hmoty se postupně vyvíjelo viz práce Kononové (1961), Flaiga (1964), Alexandrovové (1970, 1975), Najmra (1957, 1958), Orlova (1975).

Organické látky v půdě můžeme rozdělit a klasifikovat podle následujícího schématu vycházejícího z Drozd et al 1997:



Obr. 1 Schéma třídění organických látek v půdě

3.1.2.1 Organické látky v půdě

Pokládáme-li všechny organické látky nacházející se v půdě za jednu množinu, můžeme ji v první řadě rozdělit na dvě základní části - živé organismy a „mrtvou“ půdní organickou hmotu. Půdním edafonem se nebudeme dále zabývat, to je náplní jiných vědních oborů.

3.1.2.2 Půdní organická hmota

Všechny neživé části a látky, které jsou heterogenní směsí složenou většinou z produktů mikrobiální činnosti a chemických přeměněných organických zbytků. Půdní organická hmota se vyskytuje v různých odlišných morfologických strukturách, které slouží jako základ pro klasifikaci forem a typů humusu.

Z hlediska půdní úrodnosti můžeme říci, že půdní organická hmota má v podstatě dvě základní a odlišné složky – primární organickou hmotu a humusové látky

3.1.2.3 Primární organickou hmotu

Primární organická hmota se skládá z velkého množství nejrůznějších látek, v podstatě tam lze nalézt téměř všechny druhy organických sloučenin. Převážnou část této hmoty však tvoří celulóza a lignin, jakožto hlavní produkty rozkladu rostlinných zbytků.

Primární organická hmota má zanedbatelnou iontovýměnnou kapacitu, ale je mineralizovatelná, a proto může být zdrojem energie pro půdní mikroedafon. Její význam je ve schopnosti udržovat v kondici mikrobiální život v půdě a tak nepřímo ovlivňovat i její oživení mikroorganismy, působit na mobilitu živin, působit rozklad organických polutantů v půdě (Kužel et al. 2001a).

Primární organická hmota obsahuje jak nepřeměněné materiály tak i přeměněné avšak nezhumifikované látky:

Nepřeměněné materiály

Jsou to organické látky na různém stupni rozkladu od čerstvých a nezměněných částí zbytků rostlin a živočichů, u nichž je patrná ještě i původní morfologická struktura až produkty jejich rozkladu.

Nehumusové látky

Jak už bylo výše uvedeno výše, nehumusové látky tvoří obrovské spektrum organických látek. Největší část však tvoří celulózy, hemicelulózy a lignin. Další významnou složkou jsou sacharidy, které slouží především jako energie pro půdní mikroorganismy. Kromě toho lze v půdě nalézt též proteiny, tuky, aminokyseliny, živce, vosky a další nízkomolekulové sloučeniny.

Kvalita primární organické hmoty z velké míry určuje půdní úrodnost (Haynes 2005, Ghani et al. 2003, Maia et al 2007, Majumder et al. 2007, 2008). Pokud umožňuje dostatečnou aktivitu půdní mikroflóry, ta rozkladem této hmoty uvolňuje velké množství prvků, které mohou rostliny využít pro svou vegetaci. Tato kvalita je dána především lability organických látek, resp. jejich přístupností pro mikroorganismy. To znamená, že i když bude v primární organické hmotě dostatek zásobních prvků pro výživu rostlin, ale tato bude příliš stabilní vůči rozkladu, tyto látky se neuvolní a úrodnost půdy bude malá.

Současná věda právě řeší problém, jak tuto kvalitu primární organické hmoty hodnotit. I když je možno z půdy extrahovat a identifikovat mnoho skupin organických látek, neříká to nic o jejich kvalitě. Je to dáno tím, že např. druhů molekul, které bychom podle organické chemie zařadili k celulózám, můžeme nalézt v půdě tisíce (Stevenson 1994), přičemž je nemůžeme jednotlivě identifikovat a navíc by to nemělo ani příliš rozumné opodstatnění. Proto se snažíme přistupovat k půdní organické hmotě jako celku a nalézt způsob, jak hodnotit její kvalitu.

Kvalita primární organické hmoty se většinou posuzuje jako míra odolnosti vůči mikrobiální nebo chemické oxidaci, přičemž jsou snahy o její rozdělení na frakce odstupňované podle lability.

3.1.2.4 Humusové látky (humus)

Humus je půdní organická hmota, která prošla v půdě transformačním procesem humifikace, při kterém neprobíhají pouze rozkladné reakce, ale především reakce syntetické. Humifikace je proces endotermický. Jejimi produkty jsou huminové kyseliny, fulvokyseliny a huminy a také jejich produkty reakcí v půdě, např. s ionty, molekulami i s koloidní minerální půdní frakcí. Tyto látky jsou mikrobiálně velmi stabilní, počas mineralizace

fulvokyselin se odhaduje na 80 let, huminových kyselin na 3 000 – 6 000 let a huminů ještě více (Kolář et al. 2000a, 2000b).

Humusové látky mají významnou iontovýmennou kapacitu (Kolář 1997), jejich význam je hlavně v udržení živin v půdě, procesy sorpce a iontové výměny, ale jejich mineralizace je neobyčejně pomalá. Proto nejsou zdrojem energie pro půdní mikroedafon. Kvalitu zhumifikované půdní organické hmoty můžeme vyjádřit iontovýmennými a sorpčními reakcemi, podobně jako v analytické chemii ionexů (Kužel et al. 2001b).

Humusové látky svojí sorpční a hlavně iontovýmennou kapacitou rozhodujícím způsobem ovlivňují nejen eluci živin z půdy, ale i samočistící funkci půdy při kontaminaci xenobiotickými polutanty, tvorbu organominerálních komplexů půdních agregátů a mnoho dalších faktorů, které jsou významné pro půdní úrodnost (Kolář 2002). Produktivita humifikace závisí na poměru volné energie, vznikající v aerobních procesech transformace půdní organické hmoty, k produkci nízkomolekulárních organických sloučenin, které jsou prekursory humusu a vznikají hlavně v anaerobních procesech transformace (Novák 1966).

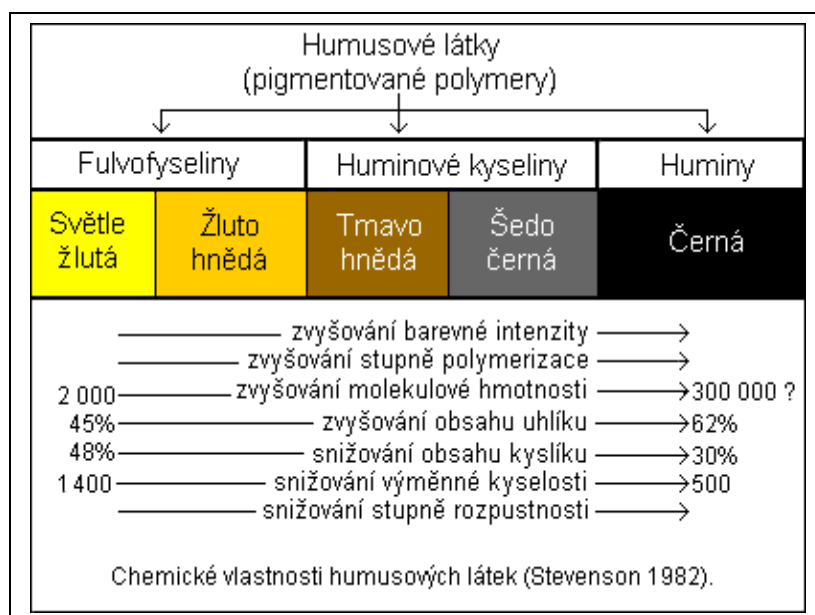
Huminové kyseliny – jsou látky patřící do skupiny humusových látek, kterým se při studiu půdních organických látek věnuje největší pozornost. Nejsou rozpustné ve vodě v kyselém prostředí, rozpustné jsou až teprve při vyšších hodnotách pH. Především je třeba uvést, že huminových kyselin existují tisíce, možná i desetitisíce druhů a tudíž nelze jejich stavbu vyjádřit jediným strukturním vzorcem (Gjessing 1976). Nicméně, mají navzájem podobné vlastnosti a složení, takže je možno je řadit do jedné skupiny.

Předpokládá se, že makromolekuly huminových kyselin sestávají z polycyklického aromatického jádra a periferních částí tvořených různými funkčními skupinami. Jako příklad, jak si různí autoři představují stavbu huminové kyseliny jsou uvedeny obr. 2 až 4.

fulvokyseliny – je skupina vysokomolekulových oxikarboxylových dusíkatých sloučenin, které na rozdíl od huminových kyselin se vyznačují nižším obsahem uhlíku (Ťurin 1951). Jsou rozpustné ve vodě při všech hodnotách pH. Tak jako u huminových kyselin i fulvokyselin je velké množství druhů, které není možno ani při současných výkonech preparativní chemie jednotlivě identifikovat. Fulvokyseliny jsou látky nižší molekulové hmotnosti, nižšího stupně kondenzace i polymerace oproti huminovým kyselinám a světle žluté až tmavě žluté barvy. Fulvokyseliny i jejich soli (fulváty) jsou dobře rozpustné ve vodě a snadno vytvářejí rozpustné komplexy s vícemocnými kationty (Orlov 1999).

huminy – jsou chemicky různorodé látky, podobné huminovým kyselinám, vázané na minerální část půdy. Právě pro svou vlastnost vytváření organominerálních sloučenin jsou ze všech humusových látek nejodolnější vůči rozkladu.

Rozdělení, některé vlastnosti a vztahy mezi humusovými látkami je možno vidět na obr. 5 (Stevenson et al. 1969)



Obr. 5 Vlastnosti humusových látek

3.2 HISTORIE ZKOUMÁNÍ PŮDNÍ ORGANICKÉ HMOTY

Počátky zkoumání půdy sahají až do přelomu 18. a 19. století, kdy se vědcům podařilo extrahovat z půdy tmavě zbarvený organický materiál, který začal být označován jako „humus“ (Achard 1786, de Saussure 1804). Později byly objeveny i postupy preparace huminových látek, jež se v základu užívají dodnes (Sprengel 1837).

Termínem „humus“ začala být označována všechna organická hmota v půdě. Věda proto začala určovat tento organický uhlík oxydimetrickou metodou, tj. spalováním na mokré či suché cestě. Tento uhlík spalitelných organických látek v půdě začal být označován C_{ox} . Tehdy se také myslelo, že v půdě je obsažena pouze jediná huminová kyselina, jejíž průměrný obsah uhlíku je 58 %. Vědci proto začali přepočítávat C_{ox} faktorem 1,724 na huminovou kyselinu a tedy i tak zvaný „humus“, i když to humus vůbec nebyl (Kolář, Kužel 1999).

Dnes víme, že C_{ox} v půdě je tvořen nejen uhlíkem humusu (humusových látek), ale také kořínky rostlin, zbytky organických hnojiv, kořenovými exudáty a dalšími látkami, které nemají s humusem nic společného. Proto vyjadřovat obsah organické hmoty v půdě jako C_{ox} neříká nic o obsahu humusových látek (Kolář 2002).

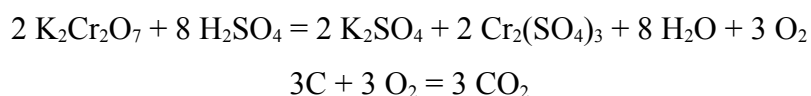
3.3 METODY ANALÝZY A HODNOCENÍ PŮDNÍ ORGANICKÉ HMOTY

Metody jimiž se provádí analýza půdní organické hmoty a především humusových látek je možno rozdělit do dvou skupin v závislosti na jejich interakci se zkoumaným materiálem (Barančíková et al. 1997):

- destruktivní (jejich použitím dochází k chemickým změnám ve zkoumaných látkách) např.: oxidace, hydrolýza, biologický rozklad
- nedestruktivní (při jejich použití nedochází k chemickým změnám ve zkoumaných látkách) např.: spektrografie v různých oblastech vlnových délek, elektronová paramagnetická resonance, rentgenová analýza, nukleární magnetická rezonance

3.3.1 Stanovní oxidovatelného uhlíku C_{ox}

Při charakterizaci organické hmoty v jakékoli půdě je třeba nejprve vědět, dříve než se začneme zabývat jejími jednotlivými složkami, její celkový obsah v půdě, a proto se jako jeden z hlavních ukazatelů uvádí obsah oxidovatelného uhlíku C_{ox} , který se zjišťuje chemickou oxidací podle Tjurina, jejíž průběh uvádí rovnice (Pospíšil 1964):



Množství spotřebovaného kyslíku se stanoví na základě rozdílu mezi nespotebovaným a spotřebovaným množstvím kyseliny chromsírové. Nespotebovaná kyselina chromsírová se stanoví titrací roztokem Mohrovy soli.

Ukázalo se však, že celkový obsah organickým látek v půdě je příliš hrubé měřítko hodnocení, protože některé její frakce jsou biologicky a chemicky velmi aktivní, jiné jsou téměř inertní. Zastoupení těchto aktivních a téměř neaktivních frakcí se v různých půdách velmi liší, a proto je třeba důležité znát pro každou půdu specifické množství rozložitelné organické hmoty (Kolář 1988).

3.3.2 Stupeň humifikace

Vyjadřuje, jaká část z celkového uhlíku je tvořena huminovými látkami, tj. výrazem (Kolář et al. 2000b):

$$S_H = \frac{C_{oxHK} + C_{oxFK}}{C_{oxcelk}} \cdot 100$$

Zbylou část uhlíku tvoří organická hmota s různou mírou rozložitelnosti. Tato diplomová práce se zabývá právě touto částí organické hmoty, jejíž míru rozložitelnosti se pokouší stanovit několika metodami.

3.3.3 Poměr huminových kyselin a fulvokyselin HK:FK

Od 60. let 20. stol. se pro lepší zobrazení vlastností půdní organické hmoty udává poměr huminových kyselin a fulvokyselin . Tento ukazatel však hodnotí pouze humusové látky a primární organické hmoty se netýká.

3.3.4 C_{hws}

Hot water soluble carbon – uhlíkaté látky rozpustné v horké vodě (C_{hws}) obsahuje především jednoduché organické sloučeniny a slabě rozložitelné sacharidy. Výhodou je, že hodnota C_{hws} je relativně nezávislá na vlivu ročníku. Dobře odráží množství rozložitelné organické hmoty a tím též schopnost půdy uvolňovat dusík (Körschens et al. 1990). C_{hws} obsahuje asi 3 % z celkového organického uhlíku v orných půdách a pravděpodobně představuje tu část půdní organické hmoty, která je rozložena a mineralizována během vegetačního období (Weigel 1998).

3.3.5 C_{cws}

Cold water extractable carbon – organická hmoty rozpustná ve studené vodě. Porovnání extrakcí studenou a horkou vodou ukazuje podíl lehce rozpustných sacharidů oproti méně rozpustným jako jsou např. hemicelulózy, které jsou rozpustné až při vyšších teplotách.

3.3.6 Barevný kvocient Q4/6

Huminové kyseliny získané z půdy extrakcí roztoku pyrofosforečnanu sodného a hydroxidu sodného se spektrofotometricky měří při vlnových délkách 465 a 665 nm nebo alespoň v rozpětí těchto délek po každých 10 nm. Barevný kvocient Q4/6 je poměr mezi absorbancí světla o vlnové délce 465 nm procházejícího tímto roztokem oproti absorbanci při 665 nm (Pospíšil, Drozdová 1967)

3.3.7 Respirační metody

U nás těmito metodami pracovali hlavně Novák (1965), Pokorná et al. (1980) a Kubát a Vrzáková (1984). Tato metoda vychází z předpokladu, že podíl snadno rozložitelných látek je v různých půdách různý a je zřejmé, že biologická aktivita, labilita půdní organické hmoty, ale i množství živin, které se uvolní během mineralizace pro rostliny závisí na množství těchto lehce rozložitelných organických látek v půdě.

Respirační metoda se dá použít pro zjištění potencionální schopnosti mikroflóry využívat lehkou rozložitelnou organickou hmotu, jako např. glukózu, čímž lze do určité míry charakterizovat mineralizační schopnost mikroflóry. Podstata metody spočívá v porovnání produkce CO₂ vzorku s přidaným roztokem živin se vzorkem bazálním (bez přidaných organických nebo minerálních živin) při stanovených podmínkách. Samozřejmě že lze respirometrické testy brát opačně i na porovnání podle lehce rozložitelné půdní organické hmoty za daných podmínek mikrobiální aktivity

Kubát a Veselý (1986) uvádějí další dvě metody stanovení rozložitelnosti půdní organické hmoty a to inkubační a Körschensovu (1980). Körschensova metoda vychází z předpokladu, že těžko rozložitelné až inertní frakce organických látek v půdě jsou vázány na minerální složku půdy a to na jemné jílovité částice a prach (částice menší než 6,3 μm), tedy částic s vysokou adsorpční schopností. Čím větší mají půdy podíl těchto jemných částic, tím větší množství půdní organické hmoty bude pevně poutáno v organicko minerálním komplexu a tedy těžko rozložitelné půdní mikroflórou. Tato závislost byla pozorována již dříve, Körschens ji však ověřil v mnoha pokusech a definoval vzorcem:

$$C_{t(\text{mezni})} = 0,04 \times FA\% + 0,3$$

$C_{t(\text{mezni})}$ – obsah uhlíku půdní organické hmoty, který lze považovat za nerozložitelný (inertní)

FA% – procentický podíl jemných částic pod 6,3 μm

Výsledky této metody ukazují, že větší množství rozložitelných organických látek je ve vzorcích z méně příznivých klimatických podmínek a horských oblastí, kde v důsledku nízkých teplot probíhá humifikační proces velmi pomalu a v půdě se tedy hromadí množství primární organické hmoty.

Inkubační metoda vychází z definice: rozložitelný humus je ten, který se rozloží a mineralizuje. Nevýhodou inkubační metody je její časová a pracovní náročnost. Autoři

prováděli inkubační metodu po 16 dní, přičemž zjistili, že v prvních 3 – 4 dnech dochází k velmi rychlosti respirace půdní mikroflóry, což přičítají mineralizaci biomasy, která odumřela při vysoušení vzorků. V dalším průběhu experimentu podle autorů už probíhá mineralizace rozložitelných organických látek. Pokud extrapolujeme regresní přímkou směrem k počátku, zjistíme na ose y počáteční stav. Pokud je správný předpoklad exponenciálního růstu půdní mikroflóry a kinetiky 1. řádu pro rozklad půdní organické hmoty, musí platit lineární závislost mezi množstvím mineralizovaného substrátu a rychlostí jeho mineralizace.

Podle zjištění Kubáta (1999) však s rostoucí koncentrací půdní organické hmoty neroste rychlost její mineralizace, což se zdá být paradoxní.

3.3.8 Současný stav v problematice zkoumání labilní půdní organické hmoty

Schulten a Leinweber (1999) využili ve své práci termické pyrolyzní metody, především DTA v kombinaci s hmotovou spektrografií (Py-FIMS), jejíž výsledky porovnávají s C_{hws} . Uvádějí, že rostlinné zbytky, jako hlavní zdroj organického uhlíku tvoří především látky o nízké měrné hmotnosti (hustotě). Je to tzv. „lehká frakce“ nebo také POM (Particulate organic matter). Ve svém výzkumu rozdělili vzorky půdní organické hmoty na lehkou část (hustota pod 1,6 – 2 g/cm³) a těžkou část (hustota nad 1,6 – 2,6 g/cm³). V jednotlivých frakcích zjistili chování sacharidů (s pentozou a hexozou), fenolů a ligninových monomerů, ligninových dimerů, lipidů, alkanů, alkenů, mastných kyselin a esterů, při pyrolýzách. Zjistili maxima výtěžku alkylaromatických látek, lipidů a sterolů v oblastech okolo 500 °C, což podle autorů značí organominerální vazby. Neočekávaná využití sacharidů, dusíkatých látek, peptidů, fenolů a ligninových monomerů při nízkých teplotách odpovídá C_{hws} . Tato studie naznačuje, že i tyto těžké frakce mohou být degradovány mikroorganismy a tak zahrnuty v procesech půdní organické hmoty.

Pokusy (Eusterhues et al 2003) provedené na kyselých lesních půdách (distric cambisol, haplic podzol) ukázaly, že staré stabilní frakce obsahovaly do 30 % z celkového organického uhlíku v povrchových horizontech, ale dosahovaly až 80 % v podpovrchových horizontech. Naproti tomu Crow et al. (2006) uvádí, že ne vždy musí lehké frakce obsahovat snadno rozložitelný uhlík, když porovnání respirovaného CO₂ z půd pod listnatým a jehličnatým lesem ukázalo, že kumulativní respirace z lehké frakce byla vyšší než těžké frakce u půdy listnatého lesa, zatímco u půdy jehličnatého lesa tomu bylo právě naopak.

V poslední době se znovu začíná uplatňovat též IR-spektroskopie (Capriel et al. 1995, 1997), i když interpretace získaných IR-spekter huminových kyselin nemusí být jednoduchá a jednoznačná (Kolář et al. 2006).

Při studiu rozložitelnosti půdní organické hmoty musíme brát v úvahu i procesy jimiž se primární organická hmota stabilizuje, protože, aby mohla být zpětně rozložena, musí projít procesy opačnými než při stabilizaci. Předpokládá se (Ekschmitt et al. 2005), že půdní organická hmota je stabilizována komplexem mechanismů, které jsou určující pro rychlost mineralizace, z nichž některé nejsou založeny na kvalitě substrátu nebo půdních podmínkách ale na biologii rozkladných půdních organismů.

Při frakcionaci půdní organické hmoty je možno použít nejrůznějších činidel. Např. lehce rozložitelné frakce je možno též oxidovat pomocí H_2O_2 (Leifeld et al. 2001). Je možno provádět extrakci (kyselou hydrolyzu) rostlinných zbytků pomocí H_2SO_4 s rozdělením na tři frakce – labilní část, labilní část II (méně labilní než I) a nehydrolyzovatelný zbytek. (Shirato et al. 2006). Někteří autoři volí i extrakci K_2SO_4 (Blair et al., 1995, Růžek et al 2006). V poslední době se labilní organické látky sledují podle oxidačních schopností. K oxidaci se používá neutrální 16,5 a 33 mM roztok $KMnO_4$ nebo obvyklý $K_2Cr_2O_7$, ale i různě koncentrované H_2SO_4 .

Labilní složkám primární organické hmoty je v současné době věnována značná pozornost. Labilní frakce půdního uhlíku jsou považovány za významný indikátor půdní kvality (Haynes 2005, Ghani et al. 2003, Maia et al 2007, Majumder et al. 2007, 2008) a právě nejlabilnější složky půdní organické hmoty se považují za její nejcitlivější indikátory (Maia et al 2007).

Tyto frakce jsou charakterizovány velmi různě. Jsou za ni považovány uhlíkaté látky rozpustné v horké vodě (Oyonarte et al. 2007, Rovira, Vallejo 2007, Zhang et al. 2006, Lajtha et al. 2005, Ghani et al. 2003, Zaujec 2001, Weigl et al 1998, Schulz 1990), ve studené vodě (Soon et al. 2007, Jiang, Xu 2006, Zhang et al. 2006, 2004, Ni et al. 2004), uhlík mikrobiální biomasy (Zhang et al. 2006, Gelsomino et al. 2006, Majumder et al. 2007, 2008, Lagomarsino et al. 2006, Ni et al. 2004, Mendham et al 2002), látky (C a N) extrahovatelné roztokem K_2SO_4 (Gelsomino et al. 2006), nebo frakce získané postupnou oxidací $K_2Cr_2O_7$ V 6 M a 12 M H_2SO_4 nebo 12 N, 18 N a 24 N H_2SO_4 a lehce oxidovatelné půdní frakce - používá se 5,6 - 15,6 a 33 - 60 - 167 a 333 mM $KMnO_4$ (Passos et al. 2007, Vieira et al.

2007, Quincke et al 2007, Jiang, Xu 2006, Galvdo et al. 2005, Mendham et al. 2004) z kinetiky jejich mikrobiální oxidace jako reakce I. řádu.

K rozdělení C_{ox} podle stupňů lability se používá také původní Walkley-Blackova metoda (1934) v modifikaci s roztoky, v nichž se při stálé koncentraci $K_2Cr_2O_7$ mění koncentrace H_2SO_4 (Chan et al. 2001, Majumder et al. 2007)

K určení lability se také používá hydrolyza silnými minerálními kyselinami různé koncentrace (Shirato, Yokozawa 2006) a výsledky se hodnotí čtyřstupňovou (Majumder et al. 2007, 2008, Rovira, Vallejo 2002) nebo dvoustupňovou stupnicí (Gregorich et al. 2003). Objevuje se snaha využít ke stanovení labilní organické půdní frakce i metody denzitometrické magnetická resonance a nukleární magnetické resonance (Zinn et al. 2002, Shang, Tiessen 1997, Cambardella et al 1993).

Jiní autoři stanovují labilní organické látky v půdě jako vodou dispergovatelný organický uhlík WDOC (Wander et al. 1994) nebo jako „lehkou frakci“, tj. „Particulate organic matter POM“ (Quincke et al. 2007, Mirsky et al. 2008, Majumder et al. 2008, Kautika et al. 2001, Wander et al. 1994, Bremer et al. 1994) a její obsah uhlíku POM-C (Soon et al. 2007, Williams et al. 2005, Karbozova-Saljniov et al. 2004), případně její obsah dusíku POM-N (Karbozova-Saljniov et al. 2004, Marriot et al. 2006).

Za labilní půdní organické látky se považuje také uhlík mineralizovatelný (Majumder et al. 2007, 2008, Soon et al. 2007, Karbozova-Saljniov et al. 2004) a potenciálně mineralizovatelný dusík N_{miner} (Haynes 2005), uhlík bazální respirace půdních vzorků (Gelsomino et al. 2006, Graham, Haynes 2006), obsah dusíku aminocukrů N_{amino} (Galvdo et al. 2005), mineralizovatelný uhlík $C_{mine\Gamma}$ a mineralizovatelný dusík N_{mine} v POM (Mendham et al. 2004, Kautika et al. 2001), hydrolizovatelné sacharidy a polyfenoly (Rovira, Vallejo 2007).

Na množství labilní půdní organické hmoty se usuzuje z poměru hemicelulóz, celulózy a ligninu (Leblanc et al. 2006), z množství vodorozpustných agregátů (Graham, Haynes 2006, Williams et al. 2005, Cambardella, Elliot 1993), z podílu hydrofilní a hydrofobní části organické hmoty (Lajtha et al. 2005), z rozpustných sacharidů, proteinů a hemicelulózy (de Andrade et al. 2005) a z poměru nalezené mamosy ke xylose (Hu et al. 1997)

4 PRAKTICKÁ ČÁST

4.1 METODIKA

4.1.1 Metodika sekvenční extrakce

Principem této metody je extrakce organických látek z půdy, při použití rozpouštědel s postupně se zvyšující polaritou. Tím vzniknou jednotlivé frakce organické hmoty, v nichž se stanoví obsah uhlíku a analyzují se pomocí DTA. Předpokladem této metody je, že první frakce budou obsahovat snadno rozpustné organické látky, zatímco poslední budou obsahovat nejméně rozložitelné. Velikost těchto frakcí pak bude určena obsahem uhlíku. Jednotlivé zastoupení těchto frakcí v půdě by pak mělo být charakteristické pro každou půdu. Jaké látky, respektive jejich vlastnosti, jsou v jednotlivých frakcích obsaženy, by pak mělo být zjištěno analýzou DTA.

Tato metoda je založena na postupné frakcionaci vzorku půdy pěti extrakčními činidly se vzrůstající polaritou.

Připraví se vzorek půdy, ze které se odebere pouze svrchní humusový horizont. Tento vzorek se na vzduchu usuší a proseje se nejprve 2 mm a poté 0,25 mm sítím. Důležité je vzorek řádně zhomogenizovat a to i před navažováním částí vzorku pro analýzu. Z takto připraveného půdního vzorku se do kádinky naváží 10 g na analytických vahách a přidá se 100 ml destilované vody a vloží se míchadélko. Tento vzorek se promíchá 15 minut na elektromagnetické míchačce a poté se převede do centrifugační kyvety a odstředí. Tím se získají ve vodě rozpuštěné organické látky a oddělí se od nich zbytek půdy. Z této suspenze se odebere vzorek 25 ml (frakce A) a stanoví se v něm obsah uhlíku na titrátoru METTLER TOLEDO DL 50 dle níže uvedené metodiky. Další 25 ml výše uvedené suspenze se odebere ke stanovení charakteristik DTA. Zbytek půdy a vody se z centrifugační kyvety kvantitativně převede zpět do původní kádinky a tato se dá vysušit při 105 °C. Po vysušení se k této půdě přilije 50 ml butanolu a postupuje se stejným způsobem jako s vodou tzn. promíchání, odstředění (frakce B) atd. Takto se celý postup opakuje s tím, že se postupně po vodě a butanolu použijí následující činidla: chlorid uhličitý (frakce C), 1M HCl (frakce D) a 0,1M pyrofosforečnan sodný v roztoku 0,1M NaOH (frakce E).

4.1.2 Upravená metodika sekvenční extrakce

Připraví se vzorky rozdílných půdních typů a odebere se pouze svrchní humusový horizont. Vzorky se nechají na vzduchu usušit a poté se prosejí 2 mm sítím (jemnozlem I). Z tohoto 2 mm prosevu se dalším sítím získá frakce <0,25 mm (jemnozlem II). Půda se rozetře tak, aby vše prošlo přes síto o velikosti ok 0,25 mm. Pro další postup se připraví kádinky na 150 ml, reagenční lahvičky na 250 ml, elektromagnetická míchačka, titrační kelímky + titrátor METTLER TOLEDO DL-50 a centrifuga. Do první kádinky se odváží 7,5 g vzorku jemnozlemě II na přesných předvážkách (s přesností 0,005g) a přidá se odměrným válečkem přesně 100 ml destilované vody. Vloží se míchadélko a na elektromagnetické míchačce se 15 min. míchá. Po míchání se nechá vzorek stát do druhého dne (min. 16 hodin). Celý objem se po té odstředí na odstředivce při 4000 ot.min⁻¹ po dobu 20 min. Z takto získaného centrifugátu se pipetou odebere vzorek 20 ml do titračního kelímku na odpařování, zbytek centrifugátu se přelije do reagenční lahvičky, která se označí písmenem A. Titrační kelímek se dá odpařit do sušárny při 75 °C až do úplného vyschnutí. Přimo v titračním kelímku se stanoví obsah uhlíku na titrátoru METTLER TOLEDO DL-50 dle níže uvedené metodiky.

Zbytek půdy v centrifugační kyvetě se kvantitativně převede destilovanou vodou do původní kádinky s půdou a při 105 °C v sušárně vysuší. Na vysušenou půdu v kádince se přilije 50 ml butanolu. Poté se postup (míchání, odstředování) opakuje jako po použití destilované vody. Po odebrání 20 ml na titraci se dalších 20 ml slije do reagenční lahvičky a označí písmenem B1. Zbytek půdy v centrifugační kyvetě se pomocí 50 ml butanolu přenese do původní kádinky s půdou a obsah kádinky se opět na elektromagnetické míchačce 15 min. míchá. Ihned po skončení míchání se celý objem odstředí na odstředivce. Z tohoto centrifugátu se opět odebere 20 ml do titračního kelímku a zbytek cca 20 ml se přelije do reagenční lahvičky, která se označí písmenem B2. V titračním kelímku se po vysušení stanoví obsah uhlíku jako ve výše uvedeném případě.

Zbytek půdy v centrifugační kyvetě se opět kvantitativně převede pomocí destilované vody do původní kádinky a vysuší při 105 °C. Stejným způsobem se pak provede extrakce půdy chloridem uhličitým (frakce C1 a C2), následuje 1M HCl (míchání se provádí za tepla, frakce D1 a D2) a nakonec 0,1 M pyrofosforečnan sodný v roztoku 0,1 M NaOH (frakce E1 a E2). Ve všech případech kromě destilované vody se používá 50 ml extrahovadla.

Zachycené frakce v extraktech uložené v reagenčních lahvičkách se každá zvlášť odpaří na porcelánových odpařovacích miskách při 70 °C. Poté se ještě přesuší při 105 °C. Po vyjmutí

ze sušárny se uloží v exikátoru naplněným vysušeným silikagelem. Odparky se postupně z jednotlivých misek seškrabují do eprubet označených A, B1, B2, C1, C2, D1, D2, E1, E2.

V nich se přenesou k přístroji LABSYS a stanoví se charakteristika odparků na DTA.

4.1.3 Metoda postupné oxidace organických látek

Předpokladem této metody je, že můžeme stanovit stabilitu či labilitu půdní organické hmoty jako míru odolnosti vůči chemické oxidaci, v tomto případě směsi kyseliny sírové a dichromanu draselného.

Uhlík se v tomto případě stanoví jako přebytek chromsírové směsi nespotřebované pro oxidaci. Jenže i při použití pouze 2,5 ml chromsírové směsi po proběhnutí pokusu jí část zbyla, znamená to, že nebyla plně využita pro oxidaci uhlíku ve vzorku. Neboť kdyby byla plně využita, nemohli bychom ji vůbec stanovit titrováním. Kdybychom nechali oxidovat půdu déle, byla by plně využita. To znamená, že tato metoda též vyjadřuje rychlost oxidace.

Lze ovšem spekulovat, nakolik oxidovatelnost půdního uhlíku chromsírovou směsí odpovídá oxidační schopnosti půdních mikroorganismů.

Tato metoda vychází z ISO 14235, případně modifikace UKZÚZ (bod ekvivalence bioamperometrickou titrací).

Pro tuto metodu se použijí následující roztoky:

chromsírová směs $c = 0,4 \text{ mol/l}$ ($1/6 \text{ K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$)

síran železnatoamonný hexahydrát (Mohrova sůl) $c = 0,2 \text{ mol/l}$

dichroman draselný $c = 0,1 \text{ mol/l}$

Stanoví se faktor Mohrovy soli.

Připraví se vzorek půdy. Odebere se pouze svrchní humusový horizont. Půda se rozetře v achátové misce a odstraní se zbytky rostlinného či živočišného původu. Vzorky se nechají na vzduchu usušit a poté se prosejí 2 mm sítím (jemnozem I). Z tohoto 2 mm prosevu se dalším sítím o velikosti ok 0,25 mm získá jemnozem II.

Do 150 ml kádinek se naváží 0,2 g (s přesností na 0,001g) jemnozemě II. Do první kádinky se přidá 10 ml chromsírové směsi (frakce A), do druhé 7,5 ml chromsírové směsi a 2,5 ml destilované vody (frakce B), do třetí 5 ml chromsírové směsi a 5 ml vody (frakce C) a do čtvrté 2,5 ml chromsírové směsi a 7,5 vody (frakce D), krouživě se promíchají a ihned vloží

do sušárny při 125 °C na 45 min. Po vyjmutí ze sušárny se nechají kádinky 10 min. zchladnout. Destilovanou vodou (cca 70 ml) se převede obsah kádinek do titračních kelímků, ve kterých se pak provede titrace na titrátoru METTLER TOLEDO DL 50. Současně se provádí 3x opakovaný slepý pokus jen s 10 ml chromsírové směsi bez půdy. Po stanovení C_{ox} se vzorky s půdou dekantují přebytkem destilované vody a na filtračním papíru v nálevce se ještě vzorek promyje destilovanou vodou. Půda se pak převede pomocí destilované vody do odpařovací misky a nechá v sušárně odpařit při 105 °C. Po vyjmutí ze sušárny se uloží v exikátoru naplněným vysušeným silikagelem. Odparky se postupně z jednotlivých misek seškrabují do eprubet označených písmeny A, B, C, D. V nich se přenesou k přístroji LABSYS a stanoví se charakteristika odparků na DTA.

4.1.4 Metoda rozložitelnosti půdní organické hmoty v anaerobním prostředí (dále jen „anaerobní rozklad“)

Tato metoda byla navržena pro zjednodušení metody využívající aparatury Oxi-Top, neboť ta je finančně a provozně náročná (Kolář et al. 2005).

Ke vzorku zkoumané půdy se přidá inokulum anaerobních mikroorganismů, které v prostředí bez přístupu vzduchu, ale s umožněným odvodem produkovaných plynů, budou spotřebovávat pro svůj metabolismus organické látky vzorku. Čím déle se ponechá pokus probíhat, tím více by měli mikroorganismy spotřebovat uhlíku ze vzorku, přičemž by měly produkovat svou činností především metan, který se bude z pokusných baněk odvádět. Stabilita půdní organické hmoty se v tomto případě posoudí podle rychlosti, jíž bude uhlíku ve vzorku ubývat vlivem sukcese mikroorganismů. V průběhu 28 denního pokusu se provedou odběry vzorku po 1, 2, 5, 12 a 28 dnech, v nichž se stanoví C_{ox} (obsah celkového C_{ox} půd zkoumaných při tomto pokusu je znám). Pokud zkoumaná půda obsahuje především snadno rozložitelné látky (labilní) měl by obsah uhlíku rychle poklesnout během prvních tří až čtyř odběrů. Naopak, pokud bude půda obsahovat stabilnější frakce, výraznější pokles hodnoty C_{ox} by se měl projevit až u poslední či předposlední baňky.

Do baňky se naváží 1g jemnozeme II. Přilije se 100 ml destilované vody, ve které je rozpuštěna živná sůl (2:1, tj. 50% živná sůl) a pipetou přidá 4 ml aktivačního kalu. Baňka se vyplní plynným dusíkem a uzavře zátkou s plastovým nástavcem umožňujícím unikání plynů

z baňky, ale zabraňující vnikání vzduchu zpět (viz obrázek 6). Tímto způsobem se připraví 5 baněk, šestá se připraví obdobně, ale bez přidání půdy (slepý pokus). Takto připravené baňky se vloží do termostatu nastaveného na teplotu 40 °C. První baňka se vyjme z termostatu po 1 dni probíhání pokusu. Obsah baňky se kvantitativně převede do odpařovací misky a nechá se vysušit při 70 °C. Poté se ve vzorku stanoví C_{ox} . Druhá baňka se vyjme 2 dnech od zahájení pokusu, třetí 5 dní, čtvrtá 12 dní a pátá a šestá se vyjmou po 28 dnech. Vždy po vyjmutí se výše popsaným způsobem stanoví uhlík ve vzorku.



Obr. 6 Série baněk s vinnou zátkou použité pro anaerobní rozklad připravené se vzorky půdy na vložení do termoboxu

4.1.5 Metoda rozložitelnosti organické hmoty v anaerobním prostředí s měřicí aparaturou OXI TOP CONTROL (dále jen „OXI TOP CONTROL“)

Pro tuto metodu byla použita aparatura Oxi Top Control AN 12 Merck, která je původně určená pro hydrochemickou analýzu organicky znečištěných vod. Tato aparatura sestává z pracovních lahví s dvěma postranními tubusy určených pro injektáž chemikálií a tlakových snímacích hlavic, opatřených vysílačem infračerveného rozhraní, přes který je možná komunikace s kontrolérem OC 110 a dokumentaci lze uskutečnit prostřednictvím programu ACHAT OC ve spojení s PC. Měřicí hlavice uloží do své paměti při každém měření 360 datových vět, které lze prostřednictvím kontroléru graficky zobrazit.

Příprava pokusu:

Do láhví se naváží na analytických vahách 4 g vzorku zkoumané půdy, přidá se 16 ml aktivačního kalu a 400 ml 50 % roztoku živné soli. Zbylý objem láhve se vyplní dusíkem. Láhev se uzavře všemi třemi příslušnými uzávěry s těsněním a nasadí se měřící hlavice. Měřící hlavice se po jedné aktivují pomocí kontroléru OC 110, na kterém byly předem nastaveny parametry měření, a ihned vkládají do termoboxu zahřátého na teplotu 35 °C. Pokus se nechá probíhat 28 dní. Během této doby se mohou provádět kontrolní snímání probíhajícího pokusu. Toto snímání dat se provede i na konci pokusu.

Po 28 dnech se anaerobní fermentace ukončí vstříknutím 1 ml 19 % HCl injekční stříkačkou přes gumový uzávěr postranního tubusu láhve do substrátu. Okyselením dojde k vytěsnění CO₂ z kapalně fáze fermentační láhve. Výše popsaným způsobem se opět provede měření průběhu tlaku. Po 4 hodinách je proces ukončen.

Následuje injektáž 1 ml 30 % KOH do pryžového zásobníku v druhém tubusu fermentační láhve. Po 24 hodinách je sorbce z plynné fáze ukončena a z poklesu tlaku v láhvi lze spočítat celkový počet molů vyprodukovaného plynu.



Obr. 7 Třítubusové láhve v termoboxu během pokusu

4.1.6 Metodika stanovení oxidovatelného uhlíku (C_{ox})

Příprava chemikálií:

- 1) chromsírová směs 0,4 M (CHS) – 39,23 g $K_2Cr_2O_7$ se rozpustí v 900 ml destilované vody, pomalu se přidává za stálého chlazení 1 000 ml koncentrované H_2SO_4 a po vychladnutí se doplní destilovanou vodou do 2 000 ml.
- 2) Mohrova sůl 0,2 M (MS) – 160 g $Fe SO_4 \cdot (NH_4)_2SO_4 \cdot 6 H_2O$ se rozpustí v cca 600 ml destilované vody, přidá se 40 ml koncentrované H_2SO_4 a doplní do 2 l destilovanou vodou, roztok se přefiltruje. Stanoví se faktor MS na $K_2Cr_2O_7$ (10 g v 1 l)

0,1 – 0,3 g (zapiše se přesně na 4 des. místa) vzorku půdy se naváží do titračního kelímku. Přidá se přesně 10 ml chromsírové směsi, promíchá a vloží na 45 minut do sušárny při 125 °C zároveň se třemi slepými pokusy. Poté se vyjme ze sušárny, ochladí, zředí cca 20 ml dest. vody a titruje se za stálého míchání 0,2 M Mohrovou solí známého faktoru na titrátoru METTLER TOLEDO DL 50 (obr. 8).

Oxidovatelný uhlík se vypočítá podle vzorce:

$$\%C_{ox} = \frac{(v_s - v) \cdot f \cdot 0,6}{m \cdot 10}$$

v_s = spotřeba MS na slepý vzorek v ml

v = spotřeba MS na zkoumaný vzorek v ml

f = titrační faktor MS

m = navážka půdy v g



Obr. 8 Titrátor METTLER TOLEDO DL-50 při stanovování vzorku

4.1.7 Diferenční termická analýza (DTA)

Termické analýzy obecně jsou metody, jimiž se zkoumají změny stavu určité látky měřením jejich fyzikálních vlastností při probíhajícím kontrolovaném tepelném režimu. Tyto změny jsou vyvolané fyzikálními a chemickými ději probíhajícími při analýze.

4.1.7.1 Základní princip DTA

Diferenční termická analýza (DTA) je dynamická tepelně analytická metoda, při níž se sledují teplotní efekty zkoumaného vzorku spojené s jeho fyzikálními nebo chemickými změnami při jeho plynulém, lineárním ohřevu nebo ochlazování. Touto metodou se měří teplotní rozdíly mezi zkoumaným a srovnávacím (indiferentním) vzorkem, vznikající při jejich současném ohřevu, který je lineární funkcí času. Zatímco teplota vzorku srovnávacího sleduje zvolený teplotní program, teplota zkoumaného vzorku podléhá změnám, které jsou obrazem fyzikálních a chemických přeměn, jenž v něm probíhají.

Grafický záznam závislosti rozdílu teplot obou vzorků na lineárně rostoucí nebo klesající teplotě systému vykazuje pak ostrá snížení nebo zvýšení sledovaných teplotních rozdílů podle toho, zda se při probíhající přeměně spotřebovává nebo uvolňuje teplo.

Metoda je tedy založena na měření teplotních rozdílů mezi skutečnou teplotou zkoumaného vzorku a teplotou definovanou zvoleným teplotním programem. Touto metodou

Lze postihnout všechny fyzikální nebo chemické změny hmoty, provázené změnou entalpie, která se projevuje jak změnou endotermní nebo exotermní. Mohou to být fázové přeměny prvního a druhého řádu i chemické reakce různého typu.

Praxe termické analýzy ukázala, že z pouhého teplotního efektu nelze nic vyvodit o druhu probíhající přeměny ani o tom, zda jde o fázovou přeměnu nebo o chemickou reakci a zda tato změna probíhá v jednom nebo několika stupních. Druh a mechanismus zaregistrované přeměny lze analyzovat teprve dalšími fyzikálně-chemickými metodami.

Metoda má úzký vztah k metodě kalorimetrické. Rozdíl je však v tom, že při kalorimetrické metodě se tepelné zabarvení sledované změny, probíhající při určité teplotě, určuje ze statických podmínek, kdežto při metodě DTA jde o podmínky dynamické. Je také třeba upozornit na to, že pokud jde o dosažení souladu mezi skutečnou teplotou ohřívání vzorku a teplotou naprogramovanou, je mezi metodou DTA a ostatními termoanalytickými metodami zásadní rozdíl. Zatím co např. u termogravimetrie nebo dilatometrie sledujeme danou vlastnost hmoty (hmotnost, objem apod.) v závislosti na teplotě, jejíž přesné měření v souladu se zvoleným teplotním programem, je podmínkou správného měření, u DTA je vznik teplotního rozdílu mezi teplotou zkoumaného vzorku a teplotního programu (tedy referenčního vzorku) nezbytnou podmínkou pro vznik měřeného teplotního efektu.

U metody DTA se stává teplota vzorku v průběhu reakce v zásadě nekontrolovatelnou a teplotní efekt nevykazuje definovanou závislost na stupni přeměny. To do značné míry znesnadňuje vyhodnocování kinetických dat z DTA křivek.

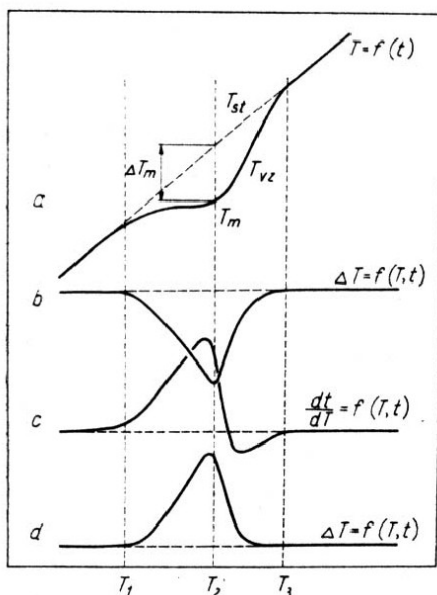
Vznik metody DTA je spojen s objevem termoelektrického článku, který usnadňuje přesné měření teploty. V roce 1878 Le Chatelier použil termoelektrických článků a fotografické registrace jejich měnicích ke studiu minerálních látek při ohřevu tak, že sledoval přímo teplotu vzorku při jeho ohřívání a ochlazování. O zdokonalení této metody se zasloužil především Roberts-Austen, který ji poprvé modifikoval na metodu diferenciální.

DTA je metoda dynamická a nedochází při ní k ustalování rovnovážných podmínek, takže ani teploty přeměn a reakcí touto cestou zjištěné, nemusí odpovídat termodynamickým rovnovážným teplotám. Poloha jednotlivých teplotních efektů na teplotní ose je za daných experimentálních podmínek charakteristická pro sledovanou látku a může sloužit k jejich identifikaci.

Energetické změny, k nimž dochází při ohřevu nebo ochlazování vzorku, lze měřit různými metodami, lišícími se od sebe způsobem, kterým se zaznamenává teplota vzorku.

Nejčastěji používanou metodou je přímý záznam křivky ohřevu a ochlazování. Spočívá v přímém měření a zápisu teploty vzorku, který je vystaven plynulému ohřevu nebo

ochlazování při známém lineárním teplotním programu. Jak plyne z obrázku 9 je tato teplota funkcí času $T = f(t)$ a do okamžiku, kdy sledovaný vzorek nepodléhá změně, má uvedená křivka tvar přímky. Její směrnice odpovídá rychlosti ohřevu a je konstantní. V okamžiku, kdy dochází ve vztahu ke změně provázené exotermním uvolněním tepla nebo naopak endotermní spotřebou tepla, se tvar křivky mění a směrnice její tečny nabývá odlišné hodnoty.



Obr. 9 Schéma křivek průběhu tepelného toku při DTA

4.1.7.2 Přístroj LABSYS – TGA – DTA

Přístroj LABSYS – TGA – DTA je určen pro termické analýzy vzorků. Rozsah pracovních teplot je 20 – 1600 °C. Analýza je prováděna zahříváním současně zkoumaného vzorku umístěném ve speciálním karborundovém kelímku a referenčního vzorku, jímž je prázdný karborundový kelímek. Měřicí zařízení přístroje snímá tepelný tok v závislosti na vzrůstající teplotě. Přístroj umožňuje zároveň provádět termogravimetrické měření (TGA).



Obr. 10 Přístroj LABSYS, na kterém byly stanovovány charakteristiky DTA

4.2 VÝSLEDKY a DISKUSE

Ve své diplomové práci jsem odzkoušel několik různých metod pro hodnocení kvality půdních organických látek. První z nich byla metoda sekvenční extrakce. Její postup je popsán výše v části metodika. Tato metoda se snaží rozdělit půdních organickou hmotu na frakce, odstupňovaně podle stability půdních organických látek, charakteristické pro jednotlivé půdní typy.

4.2.1 Metoda sekvenční extrakce

Zkoumanou půdou byla v tomto případě černozem karbonátová. Tabulka č.1 uvádí obsah uhlíku v jednotlivých frakcích při použití příslušných extrahovadel. Na první pohled je dobře vidět, že v prvních třech frakcích získaných extrakcí vodou, butanolem a chloridem uhličitým bylo stanoveno oproti dvěma zbývajícím frakcím extrahovaným kyselinou chlorovodíkovou a pyrofosforečnanem mnohem menší množství uhlíku. Největší podíl uhlíku byl nalezen ve čtvrté a páté frakcích. To jsou frakce extrahované kyselinou chlorovodíkovou, kde pravděpodobně nacházíme především fulvokyseliny, a pyrofosforečnanem, kterým se s největší pravděpodobností vyextrahují z půdy huminové kyseliny. To vypovídá o tom, že (intenzivně obhospodařovaná) černozem, i když obvykle obsahuje nižší procento uhlíku, ve srovnání s jinými půdními typy má tento uhlík tvořen právě z velké části huminovými látkami, zatímco labilní rozložitelné organické hmoty obsahuje málo. Je to dáno vysokou úrovní činnosti půdních mikroorganismů, které velice rychle rozkládají organické zbytky, protože mají ke své činnosti ty nejvhodnější podmínky, neboť černozemě se nacházejí především v teplých klimatických oblastech.

Výhodou této metody je, že extrahuje z půdy široké spektrum látek a to jak primární organickou hmotu, tak i huminové látky. Další pozitivem této metody je poměrně nízký odchylný hodnot od průměru (σ , tab.1), takže výsledky zprůměrované z pěti opakování dávají dostatečně přesnou hodnotu a odstraňují tak případnou chybu experimentu.

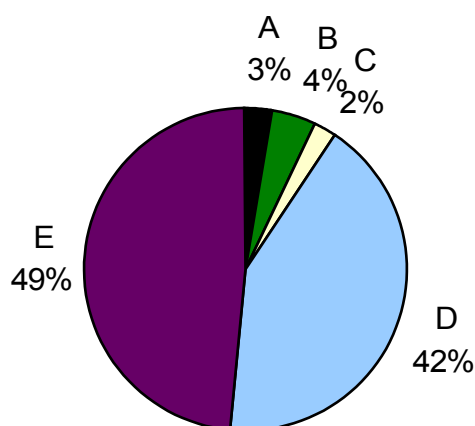
Nevýhodou je její provozní náročnost, především spotřeba extrahovadel. Protože obsah uhlíku je v prvních třech frakcích v řádech setin procenta, vyžaduje tato metoda velmi přesnou analytickou práci, především titraci. Pro odstranění tohoto nedostatku je nutné zvýšit navážku půdy a též příslušně zvýšit množství extrahovadel. Jedním z extrahovadel je však chlorid uhličitý, který se snadno vypařuje a působí jako krevní jed, takže práce s jeho větším množstvím vyžaduje zvýšená bezpečnostní opatření.

Tabulka č.1 uvádí též součet uhlíku jednotlivých frakcí. Při celkovém obsahu C_{ox} 1,724 % v této půdě představuje množství vyextrahovaného uhlíku touto metodou přibližně 50 %. Toto množství se sice zvýší, kdybychom prováděli extrakci po delší dobu nebo pokud ji provedeme opakovaně. To můžeme vidět z výsledků metody upravené sekvenční extrakce. Poměr jednotlivých frakcí se touto úpravou výrazně nezměnil. Domnívám se, že z pohledu cíle metody není nejdůležitější jak velká část půdní organické hmoty se vyextrahuje touto metodou z celkového obsahu organické hmoty ve zkoumaném vzorku půdy, ale její vhodné rozdělení do frakcí.

Tab. 1. Obsah uhlíku jednotlivých frakcí

Opakování	A voda	B butanol	C CCl_4	D HCl	E pyrofosforečnan	součet uhlíku jednotlivých frakcí
1	0,028	0,036	0,018	0,259	0,492	0,833
2	0,028	0,042	0,018	0,419	0,438	0,945
3	0,026	0,039	0,030	0,396	0,435	0,925
4	0,024	0,041	0,020	0,393	0,385	0,863
5	0,024	0,034	0,020	0,420	0,433	0,930
Průměr	0,026	0,038	0,021	0,377	0,436	0,899
σ	0,002	0,003	0,004	0,060	0,034	0,043
Procento	2,88	4,25	2,37	41,97	48,53	100

Poměrná velikost frakcí je dobře viditelná na grafu 1.



Graf 1. Poměr C_{ox} jednotlivých frakcí pokud součet všech frakcí považujeme za 100%

4.2.2 Upravená metoda sekvenční extrakce

Pro posouzení, zda metoda sekvenční extrakce vyluhuje z půdy jednotlivé frakce půdní organické hmoty v dostatečně statisticky průkazném poměru, odzkoušel jsem upravenou metodiku sekvenční extrakce, jejíž hlavním rozdílem proti výše uvedené je opakované provedení extrakcí jednotlivými činidly (s výjimkou vody). Dalšími změnami bylo upravené množství navážky půdy a provedení extrakce kyselinou chlorovodíkovou za tepla.

Ukázalo se, že poměry frakcí se navzájem příliš nezměnili; s mírnými změnami musíme počítat vždy, když pracujeme s organickým materiálem, jehož původní struktura je heterogenní. První tři frakce jsou i v tomto případě velmi malé a nepřekračují dohromady ani 10 % z celkově vyextrahovaného uhlíku (tab. 2).

Tab. 2. Obsah uhlíku frakcí pouze při první extrakci

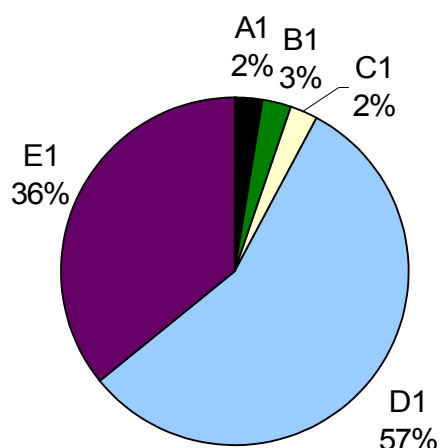
	A	B1	C1	D1	E1	součet uhlíku
Opakování	voda	butanol	CCl ₄	HCl	pyrofosforečnan	jednotlivých frakcí
1	0,030	0,047	0,021	0,716	0,488	1,3021
2	0,027	0,046	0,041	1,581	0,549	2,244
3	0,068	0,042	0,040	0,317	0,574	1,0398
4	0,030	0,043	0,041	0,964	0,492	1,5677
5	0,029	0,043	0,027	0,641	0,563	1,3032
Průměr	0,037	0,044	0,034	0,844	0,533	1,49136
Procento	2,45	2,96	2,28	56,56	35,75	100

Tab. 3. Obsah uhlíku v součtu obou extrakcí

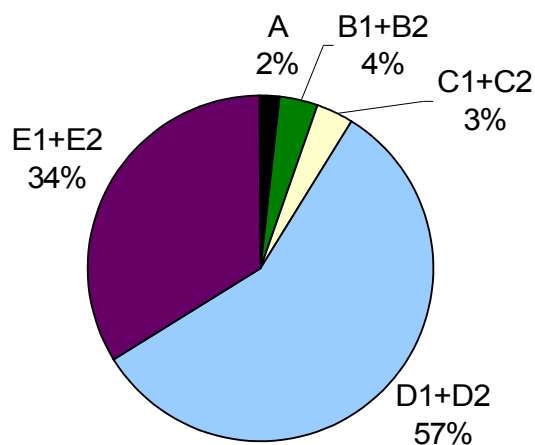
	A	B1+B2	C1+C2	D1+D2	E1+E2	součet uhlíku
Opakování	voda	butanol	CCl ₄	HCl	pyrofosforečnan	jednotlivých frakcí
1	0,030	0,077	0,047	0,949	0,588	1,6903
2	0,027	0,059	0,070	1,707	0,655	2,5179
3	0,068	0,071	0,073	0,709	0,691	1,6112
4	0,030	0,068	0,065	1,238	0,615	2,0157
5	0,029	0,070	0,052	0,874	0,672	1,6967
Průměr	0,037	0,069	0,061	1,095	0,644	1,90636
Procento	1,91	3,63	3,22	57,46	33,78	100

Vyšší variabilita hodnot získaných při vyluhu kyselinou chlorovodíkovou byla způsobena nesprávným provedením pokusu, kdy při míchání vzorku za tepla došlo k nechtěnému varu v několika vzorcích a vlivem zvýšené teploty kyseliny byla ovlivněna koncentrace uhlíku ve vzorcích.

Na grafech 2 a 3 je opět velmi dobře vidět poměrové zastoupení jednotlivých frakcí. Zvýšení podílu frakce D (graf 2) je způsobeno provedením extrakce za tepla. Bylo prokázáno, že opakovaná extrakce nijak výrazně neovlivňuje zastoupení frakcí a proto není nezbytné opakovanou extrakci provádět.



Graf 2. Poměr frakcí při první extrakci



Graf 3. Poměr frakcí při součtu první a druhé extrakce

4.2.2.1 Vyhodnocení DTA

Termografie i DTA ukázala, že jediné změny jsou zaznamenány ve frakcích získaných extrakcí vodou a extrakcí HCl v oblasti teplot 100 – 200 °C, kdy dochází k výrazným dějům endotermickým a exotermickým. Na rozdíl od frakcí A a D, frakce C (příloha 7.3), odpovídající extrakci lipofilním rozpouštědlem žádné tyto látky, které by se uplatňovaly termickými změnami při uvedených teplotách zaznamenány nebyly. Z toho se dá předpokládat, že termicky účinné při DTA jsou látky nikoli lipofilní, ale hydrofilní a vzhledem k uvažovaným teplotám jde o látky tepelně poměrně labilní. Dá se předpokládat, že je to celulóza primární organické půdní hmoty, případně hemicelulózy a produkty z těchto dvou složek odvozené. Na rozdíl od frakcí A, C, D termografie frakce E ukázala teplotní změny v oblasti kolem 800 °C. Je tedy zřejmé, že to je poměrně stabilní uhlíkatá látka z vysokým stupněm relativní molekulové hmotnosti. Zřejmě jde o humusovou kyselinu pravděpodobně huminovou kyselinu, ale její identifikace z jednoho vzorku půdní organické hmoty je prakticky nemožná. Abychom mohli DTA vyhodnotit alespoň ze semikvalitativního pohledu, museli bychom mít k dispozici záznamy DTA huminových kyselin z genetických půdních typů, které se v dané klimatické oblasti vyskytují a museli bychom k tomu mít

záznamy DTA rozdělených humusových půdních kyselin z těchto půdních typů a huminových kyselin a fulvokyselin zvláště. Závěrem tohoto hodnocení budiž řečeno, že technika DTA k hodnocení půdních organických látek není příliš vhodná, protože série dosažených výsledků je velmi chudá. Na grafech se projevuje prakticky jen celulóza primární organické hmoty a uhlík huminových kyselin pravého humusu, což k podrobnému hodnocení půdní organické hmoty nestačí.

Poznámka: grafy z DTA jsou uvedeny v příloze č. 7.3.

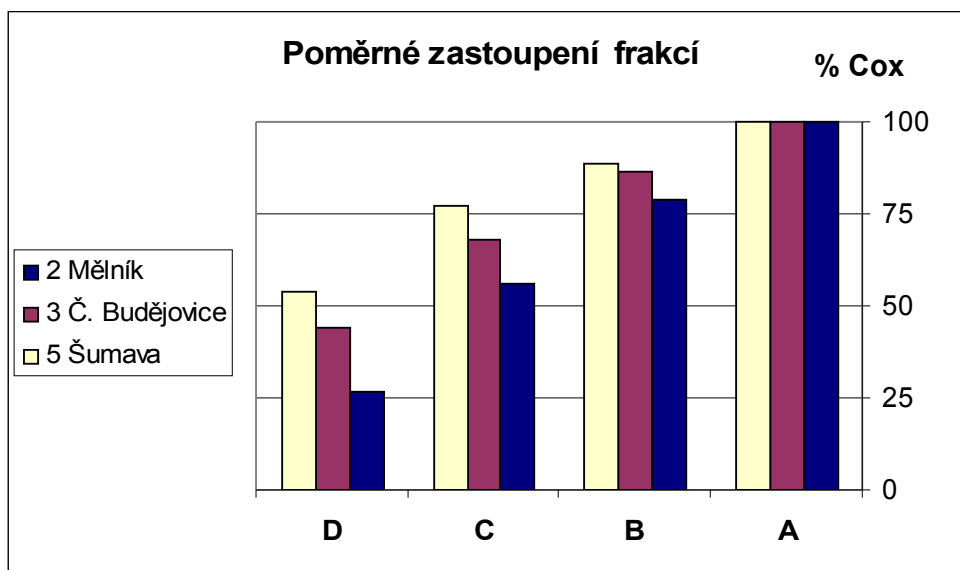
I když tato metoda „sekvenční extrakce“ poskytuje použitelné výsledky, její nevýhodou je pracovní a materiální náročnost. Pro praktické využití této metody je zapotřebí velké množství rozpouštědel znamenajících nemalé finanční náklady. Navíc se ukázalo, že by v praxi bylo nutné provádět jednotlivé extrakce odděleně, nikoli sekvenčně. Po ekonomické stránce, která dnes hraje významnou roli i v laboratorních podmínkách, ale především v podmínkách provozních, je tato metoda nevhodná. Po dohodě s vedoucím práce a konzultantem jsme dospěli k rozhodnutí, že bude upuštěno od rozvíjení této metody a budou hledány jiné metody pro hodnocení labilní složky organické hmoty půdy, jak potvrzuje následující část práce.

4.2.3 Metoda postupné oxidace

Rozložitelnost půdní organické hmoty spočívá především v rozložitelnosti celulózy a ligninu, neboť tyto látky tvoří značnou část nehumusové půdní organické hmoty. Protože u celulózy i ligninu (ale i dalších půdních organických látek) existuje mnoho forem podobně jako u huminových kyselin a fulvokyselin, mohou různé půdy obsahovat různě rozložitelnou celulózu a lignin. Tato metoda se nesnaží rozdělit tyto látky do frakcí podle jejich stability, nýbrž stanovuje jejich stabilitu dohromady. Pro tuto metodu tudíž není důležitá chemická klasifikace organické hmoty (i když ta samozřejmě také určuje její stabilitu), ale její odolnost vůči oxidaci. U této metody nezáleží, zda se oxiduje ve zkoumaném vzorku půdy např. celulóza nebo zrovna aminokyseliny, pentózany či lignin, pokud schopnost se oxidovat bude u všech těchto látek stejná, projeví se ve výsledku této metody shodně. Nicméně, při DTA se ukázalo, že průběh křivek tepelného toku je ve všech čtyřech frakcích (příloha 7.4) velice podobný, a tudíž lze předpokládat, že v každé frakci se zoxidovalo pravděpodobně stejné spektrum látek.

V druhé sérii pokusů bylo zkoumáno 8 vzorků půd z trvale neobdělávaných šumavských půd (č. 3 – 10), jeden vzorek kompostu (č. 1) a jedna zahradní půda (č. 2). Variabilita obsahu celkového uhlíku v šumavských půdách byla vysoká, v rozmezí od 4,4 do 13,6 % C_{ox} . Naproti tomu, metoda postupné oxidace ukázala, že stabilita půdní organické hmoty v těchto půdách je téměř shodná u všech vzorků. Při srovnání s první sérií testovaných půd ze zemědělsky aktivních oblastí je patrný značný rozdíl ve stabilitě organických látek těchto skupin půd. Žádná ze zemědělských půd nedosahovala tak nízkých hodnot $tg \alpha$ jako šumavské půdy (tab. 5), tzn. že organické látky šumavských půd jsou mnohem snáze rozložitelné nebo ještě spíše, že tyto půdy obsahují velké množství této lehce rozložitelné organické hmoty (neboť celkový obsah uhlíku je v nich poměrně vysoký). Ve vyšších nadmořských výškách a chladnějším klimatu nemá půdní mikroflóra pro svou činnost tak příznivé podmínky jako například v Polabí (půda 2 Mělník) a tudíž se v půdě hromadí organické zbytky, které mikroorganismy nestačí svou činností rozložit.

Zkoumání vzorků půd bylo prováděno vždy v pěti opakováních, ze kterých byla stanovena průměrná hodnota. Pokud frakci A (viz metodika) položíme rovnou 100 % zoxidovaného uhlíku, pak by Frakce B, v případě, že se budou látky ve vzorku oxidovat ideálně rovnoměrně, měla odpovídat 75 % oxidovatelného uhlíku, frakce C 50 % a frakce D 25 %. Vezměme například půdu 3 z Českých Budějovic, kde ve frakci A a tedy jako 100 % oxidovatelných látek v této půdě bylo stanoveno 2,72 % C_{ox} . Ve frakci B u této půdy bylo stanoveno 2,35 % C_{ox} . To odpovídá 86,3 % frakce A. Frakce C 1,85 % C_{ox} odpovídá 68,1 % a frakce D 1,2 % C_{ox} odpovídá 44 % celkového oxidovatelného uhlíku. To znamená, že u této půdy už při použití 50 % síly oxidovadla, stačilo na zoxidování 68,1 % organického uhlíku (tab. 4). Z toho vyplývá, že organické látky této půdy jsou poměrně labilní a oxidují se již při nízké koncentraci oxidovadla. Tímto způsobem pak můžeme porovnat stabilitu organických látek u různých půd navzájem (graf 4). U půdy 2 z Mělníka bylo zachyceno ve frakci C jen 56,2 % uhlíku, to znamená, že tato půda obsahuje mnohem méně rozložitelných organických látek ve srovnání s půdou 3 z Českých Budějovic. Naproti tomu půda 5 ze Šumavy vykázala ve frakci C dokonce 77,1 % z celkem oxidovatelného uhlíku (tab. 6), což ukazuje na velké množství labilní organické hmoty.



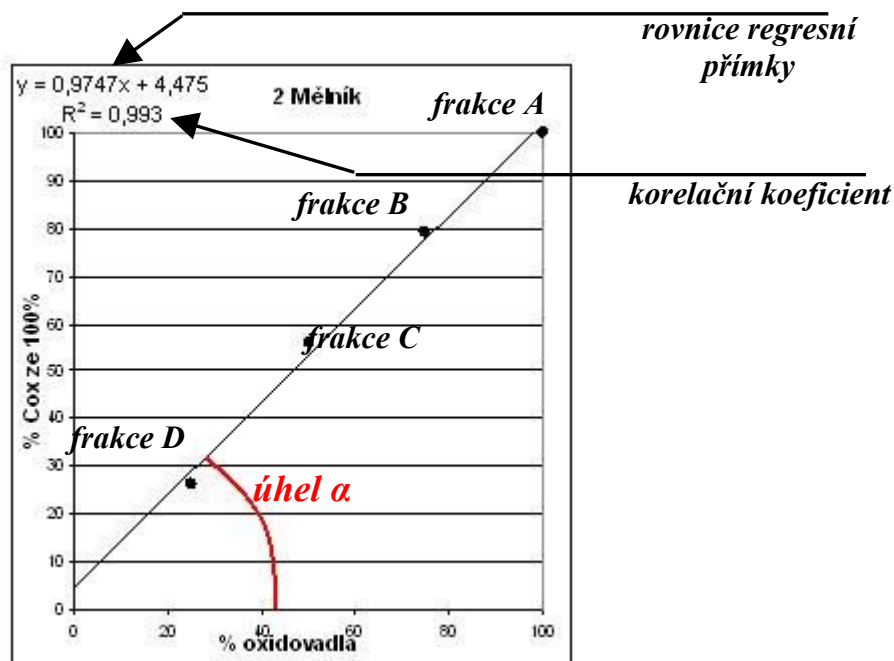
Graf 4. Rozdíly mezi frakcemi tří odlišných půd

Tyto skutečnosti lze také velmi dobře vyjádřit graficky. Pokud vytvoříme graf, na jehož osu x nanese koncentraci (sílu) oxidovadla v %, a na osu y % zoxidovaného uhlíku, získáme pro každou půdu čtyři charakterizující body. Těmito body navíc můžeme vést regresní přímkou, u níž můžeme stanovit tg úhlu α , který svírá s osou x. Stabilitu půdní organické hmoty zkoumaných půd pak můžeme charakterizovat hodnotou tg α , přičemž vyšší hodnoty blíží se 1 znamenají vyšší stabilitu a naopak nízké hodnoty znamenají nižší stabilitu půdní organické hmoty.

U zkoumaných půd bylo zaznamenáno rozpětí hodnot tg α od přibližně 0,6 do 0,975. Z toho lze usoudit, že organická hmota většiny zemědělských půd a půd mírného podnebného pásu bude vykazovat hodnoty mezi 0,5 a 1, protože v případě, kdyby se tato hodnota dostala pod uvedené rozmezí, znamenalo by to narušení komplexu půdní organické hmoty, např. znečištěním rychle se rozkládající organickou hmotou jiného než půdního původu, neboť jediné půdní organická hmota obsahuje složky, jejichž rozklad trvá i celá staletí. To potvrzuje vzorek 1 – zahradní kompost, který jako jediný se pod tuto hranici dostal a to výrazně hodnotou tg α 0,1142. Tento kompost se skládá především z organických odpadů ze zahrady a domácnosti jako např. slupky zelenin a ovoce, shrabané listí, zbytky potravin apod., což jsou látky velmi rychle rozložitelné a tudíž k jejich oxidaci touto metodou dochází již při velmi nízké koncentraci oxidovadla.

4.2.3.1 Grafické vyjádření stability půdní organické hmoty

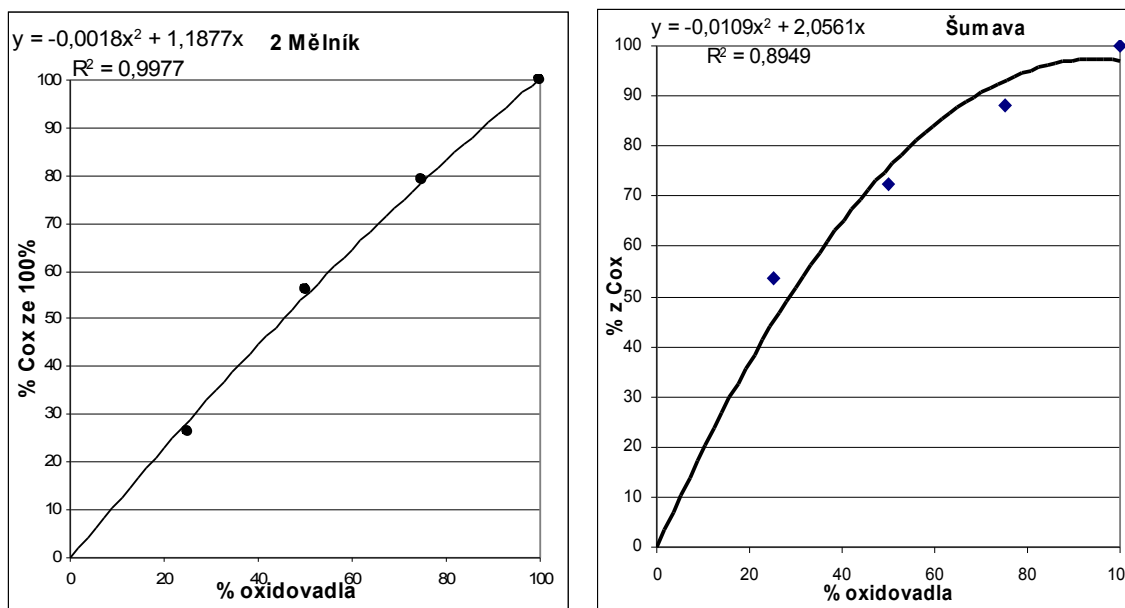
Stabilita půdní organické hmoty zkoumaných půd je v této metodě vyjádřena hodnotou $\text{tg } \alpha$, který svírá regresní přímka získaná pro zjištěné body. V grafech jsem zobrazil osy ve stejném měřítku, aby i opticky bylo vidět sklon přímky vůči ose x .



Obr. 11. Způsob grafického vyhodnocení metody postupné oxidace

Pro vyhodnocení těchto grafů je nejen důležitý sklon přímky k ose x (úhel α), ale je zajímavá i hodnota v níž tato přímka protíná osu y . Jestliže bychom však předpokládali, že regresní přímka má vždy procházet bodem $[100;100]$, znamená to, že vyjádření lability organických látek jako $\text{tg } \alpha$ je z matematického hlediska stejné, jako kdybychom tuto vlastnost vyjádřili bodem průtnutí regresní přímky a osy y . Z logického hlediska však tato hodnota nemá opodstatnění, protože by to znamenalo, že jisté množství organických látek je zoxidováno ještě než se vůbec začne s pokusem.

Proto lze předpokládat, že mezi nulovou a 25 % koncentrací oxidovadla se nachází poměrně ostrý přechod chování půdní organické hmoty vůči oxidovadlu, kdy je nejprve velmi prudce zoxidována nejlabilnější frakce organické hmoty, zatímco zbytek se oxiduje již lineárně. Bylo by nutné tuto citlivost této metody vůči nejlabilnějším frakcím zděnit a to tak, že by se měnila postupně koncentrace oxidovadla od téměř nulové po 25 %, což v současnosti představuje frakce D.



Graf 5. a Graf 6. Proložení bodů kvadratickou funkcí – deformace průběhu u půd s větším množstvím labilní organické hmoty u půd Mělník a Šumava

Pro grafické vyjádření bychom mohli použít i proložení regresní polynomicou funkcí druhého řádu (kvadratickou funkcí), jež by procházela počátkem souřadnic, tedy bodem [0;0]. Tím bychom zajistili respektování logického požadavku na přírůstek zoxidovaného uhlíku vlivem zesílení účinnosti oxidovadla. Pokud tuto úpravu provedeme u první série půd zemědělsky obhospodařovaných, hodnota koeficientu spolehlivosti se nijak výrazně nezmění, oproti tomu, když totéž provedeme u půd šumavských. U nich se koeficient spolehlivosti sníží a to proto, že obsahují více lehce rozložitelné organické hmoty než půdy zemědělsky obhospodařované. Jak už bylo uvedeno výše, dochází v první čtvrtině osy x k oxidaci nejlabilnějších frakcí půdní organické hmoty a právě tato oblast je pro každou půdu charakteristická a určuje její potenciaální úrodnost.

Tab. 4. V první sérii pokusů byla zkoumána půda z následujících lokalit: Benešov, Mělník, České Budějovice, Knínice, Valtice, Dolní Bukovsko. Tyto půdy jsou vzájemně velmi odlišné, půdním typem a druhem, což se projevuje i různým celkovým obsahem uhlíku.

přídavek CHS		1 Benešov		2 Mělník		3 Č. Budějovice		4 Knínice		5 Valtice	
CHS (ml)	H ₂ O (ml)	Cox (%)	Ø	Cox (%)	Ø	Cox (%)	Ø	Cox (%)	Ø	Cox (%)	Ø
10	0	2,08		1,48		2,72		1,79		0,62	
10	0	2,12	2,10	1,55	1,52	2,71	2,72	1,85	1,80	0,63	0,63
10	0	2,12		1,57		2,88		1,79		0,61	
10	0	2,11	100	1,53	100	2,64	100	1,77	100	0,64	100
10	0	2,07		1,49		2,64		1,81		0,63	
7,5	2,5	1,71		1,20		2,53		1,51		0,52	
7,5	2,5	1,71	1,72	1,16	1,20	2,43	2,35	1,52	1,52	0,52	0,54
7,5	2,5	1,70		1,19		2,34		1,55		0,53	
7,5	2,5	1,73	81,77	1,24	79,00	2,21	86,34	1,50	84,15	0,56	85,82
7,5	2,5	1,73		1,22		2,22		1,50		0,55	
5	5	1,51		0,81		1,75		1,23		0,39	
5	5	1,51	1,45	0,82	0,86	1,77	1,85	1,18	1,17	0,37	0,37
5	5	1,45		0,85		1,84		1,13		0,36	
5	5	1,36	69,15	0,91	56,21	1,88	68,09	1,19	64,95	0,36	59,35
5	5	1,43		0,89		2,03		1,12		0,38	
2,5	7,5	0,72		0,62		1,33		1,04		0,36	
2,5	7,5	0,80	0,81	0,39	0,40	1,09	1,20	0,72	0,71	0,34	0,24
2,5	7,5	0,86		0,23		1,26		0,78		-	
2,5	7,5	0,85	38,40	0,54	26,37	1,26	44,00	0,48	39,38	-	38,22
2,5	7,5	0,80		0,22		1,04		0,53		0,02	

Tab. 4 - pokračování

přídavek CHS		10		11		12		20 Dolní Bukovsko	
CHS (ml)	H ₂ O (ml)	Cox (%)	∅	Cox (%)	∅	Cox (%)	∅	Cox (%)	∅
10	0	4,01		7,20		4,19		5,17	
10	0	3,71	3,68	7,35	7,19	4,54	4,44	5,14	5,22
10	0	3,85		7,33		4,56		5,19	
10	0	3,25	100	7,21	100	4,52	100	5,20	100
10	0	3,60		6,88		4,39		5,42	
7,5	2,5	2,68		6,28		3,72		4,48	
7,5	2,5	2,78	2,97	6,45	6,18	3,69	3,80	4,46	4,54
7,5	2,5	2,95		6,33		3,89		4,50	
7,5	2,5	3,38	80,65	6,00	85,89	3,85	85,68	4,66	86,86
7,5	2,5	3,05		5,83		3,87		4,59	
5	5	2,25		4,93		3,05		3,74	
5	5	2,18	2,34	4,88	5,02	2,89	3,07	3,78	3,85
5	5	2,43		4,98		3,03		3,94	
5	5	2,37	63,63	5,05	69,77	3,31	69,27	3,97	73,71
5	5	2,47		5,26		3,10		3,82	
2,5	7,5	1,91		4,31		-		3,60	
2,5	7,5	1,19	1,44	1,93	3,31	1,47	1,78	2,22	2,82
2,5	7,5	1,23		3,38		1,58		3,05	
2,5	7,5	1,36	39,00	3,25	46,07	2,17	40,13	2,28	54,05
2,5	7,5	1,49		3,70		1,90		2,97	

Tab. 5 Tg α u půd uvedených v tab. 4

půda	1 Benešov	2 Mělník	3 Č. Budějovice	4 Knínice	5 Valtice	10	11	12	20 Dolní Bukovsko
tg α	0,7895	0,9747	0,7449	0,8044	0,8472	0,8390	0,6955	0,7841	0,6483

Tab. 6 Výsledky šumavských půd z různých lokalit

přídavek CHS		1		2		3		4		5	
CHS (ml)	H ₂ O (ml)	Cox (%)	Ć	Cox (%)	Ć	Cox (%)	∅	Cox (%)	∅	Cox (%)	∅
20	0	8,91	8,63	9,20	9,23	14,01	13,89	7,70	7,25	12,57	12,30
20	0	9,60		9,37		14,21		7,11		11,99	
20	0	8,41	%	9,10	%	14,14	%	7,01	%	11,81	%
20	0	8,34	100	9,27	100	14,07	100	7,40	100	12,64	100
20	0	7,88		9,19		13,04		7,05		12,49	
15	5	8,87	8,48	8,68	8,13	11,98	11,28	6,02	5,96	10,64	10,90
15	5	8,20		8,20		11,03		5,76		10,89	
15	5	8,51	%	8,21	%	11,16	%	5,75	%	11,30	%
15	5	8,50	98,31	7,61	88,12	11,21	81,17	6,00	82,22	10,93	88,64
15	5	8,32		7,95		11,01		6,28		10,75	
10	10	8,90	8,41	6,54	6,70	8,83	9,09	4,99	5,03	9,17	9,48
10	10	8,65		6,62		9,05		4,95		9,60	
10	10	8,32	%	6,72	%	9,35	%	4,94	%	9,24	%
10	10	7,91	97,52	6,93	72,62	9,12	65,45	5,20	69,41	9,58	77,07
10	10	8,29		6,69		9,12		5,09		9,82	
5	15	7,61	7,83	4,48	4,86	6,25	6,58	3,78	3,78	6,60	6,59
5	15	8,03		5,01		6,90		3,70		6,81	
5	15	8,12	%	4,99	%	6,85	%	3,80	%	7,07	%
5	15	7,76	90,75	5,02	52,70	6,57	47,36	3,62	52,06	6,32	53,59
5	15	7,62		4,81		6,33		3,98		6,16	

Tab. 6 - pokračování

přídavek CHS		6		7		8		9		10	
CHS (ml)	H ₂ O (ml)	Cox (%)	∅	Cox (%)	∅	Cox (%)	∅	Cox (%)	∅	Cox (%)	∅
20	0	4,03	4,08	9,13	9,48	6,67	6,67	4,86	4,80	9,35	9,29
20	0	4,10		9,66		7,08		4,61		9,28	
20	0	4,09	%	9,55	%	6,42	%	4,76	%	9,20	%
20	0	4,07	100	9,75	100	6,40	100	4,86	100	9,28	100
20	0	4,10		9,30		6,79		4,89		9,33	
15	5	3,34	3,29	7,61	7,85	5,88	5,86	4,34	4,21	8,02	7,73
15	5	3,43		7,66		5,76		4,25		7,61	
15	5	3,05	%	7,99	%	5,71	%	4,23	%	7,53	%
15	5	3,36	80,73	7,80	82,85	6,12	87,83	4,12	87,86	7,72	83,23
15	5	3,28		8,20		5,83		4,13		7,77	
10	10	2,51	2,57	6,19	6,47	5,07	5,39	3,70	3,69	6,37	6,30
10	10	2,57		6,39		5,27		3,68		6,35	
10	10	2,75	%	6,14	%	5,64	%	3,75	%	6,12	%
10	10	2,53	63,07	6,99	68,23	5,00	80,76	3,61	76,86	6,35	67,83
10	10	2,50		6,62		5,96		3,69		6,31	
5	15	1,73	1,82	4,64	4,71	3,65	3,83	2,78	2,84	4,80	4,81
5	15	1,90		4,71		3,65		2,91		4,88	
5	15	1,83	%	4,94	%	4,06	%	2,87	%	4,95	%
5	15	1,82	44,53	4,68	49,70	3,97	57,40	2,84	59,13	4,77	51,83
5	15	1,80		4,58		3,82		2,78		4,68	

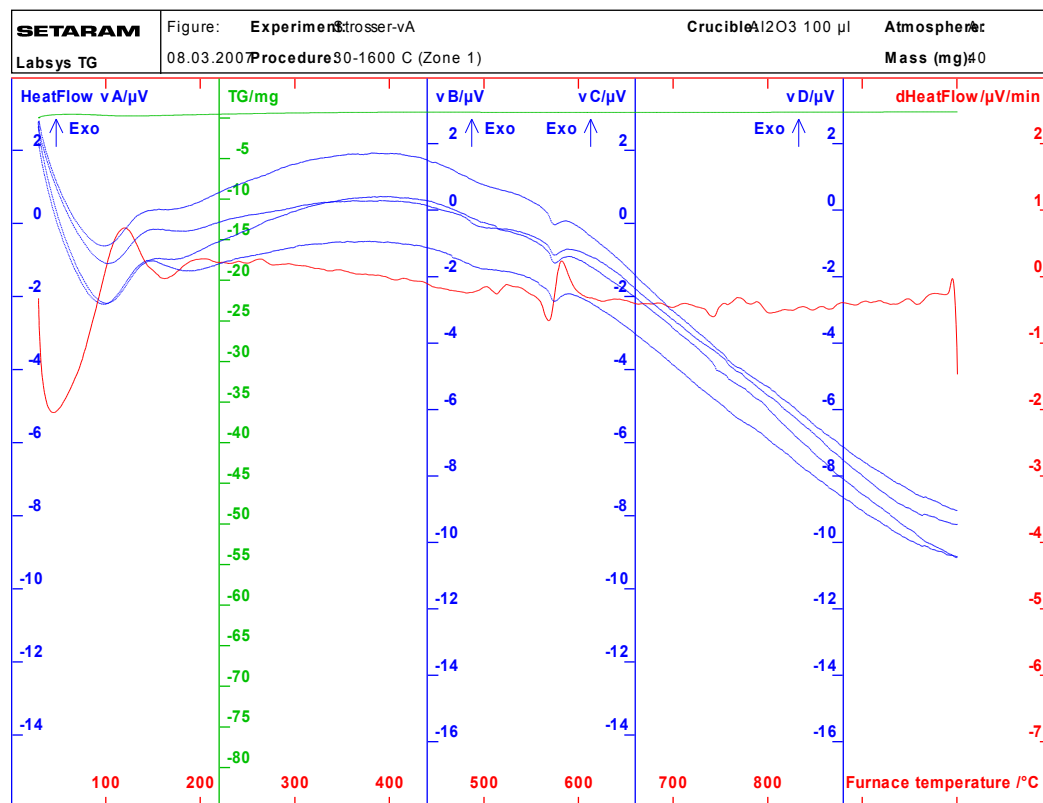
Tab. 7 Tg α u půd uvedených v tab. 6

půda	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
tg α	0,1142	0,6296	0,6946	0,6265	0,6032	0,7362	0,6621	0,5394	0,5344	0,6396
celkový Cox	32,4	9,8	12,7	8,2	13,6	4,4	9,1	7,2	5,4	8,3

4.2.3.2 Vyhodnocení DTA

Při hodnocení metody postupné oxidace termografickým měřením se ukázalo, že všechny frakce mají zhruba stejný termografický průběh, což znamená, že ve všech frakcích byly zachyceny stejné látky pouze s rozdílem v jejich koncentraci, která je indikována pouze rozdílnou intenzitou termických dějů jednotlivých frakcí. Jediná tepelná změna odpovídající DTA se objevuje u daného vzorku v okolí teplot 550 – 580 °C (graf 7). I v tomto případě je termografie i DTA nesmírně chudá k jakémukoli pokusu o hodnocení, a proto lze konstatovat, že metoda DTA se k hodnocení půdní organické hmoty frakcionované metodou postupné oxidace nehodí.

Graf 7. Průběh frakcí A, B, C a D půdy 2 Mělník



4.2.4 Metoda anaerobního rozkladu

Stabilita jakékoli organické hmoty a tedy i půdní organické hmoty je však poněkud rozdílná v aerobních podmínkách, při kterých probíhá mineralizace a v anaerobních podmínkách, kde probíhá anaerobní digesce čili vyhnívání s produkcí bioplynu, v němž zpravidla převažuje metan. Tato metoda je navržena k posouzení rozložitelnosti organické hmoty v anaerobních podmínkách s anaerobní digescí a vznikem bioplynu (Kolář et al. 2006).

Předpokladem této metody je, že mikroorganismy z kalu, kterým byly vzorky inokulovány, svou činností budou rozkládat půdní organickou hmotu a zároveň produkovat bioplyn. Po 28 dnech lze považovat organické látky za totálně rozložené. Tabulky uvádějí obsah C_{ox} , resp. jeho úbytek v průběhu experimentu.

Tab. 8 Původní C_{ox} : 35,4

půda č. 1	C_{ox} (%)	$\emptyset C_{ox}$ (%)
po 1 dni	34,2	34,3
	34,3	
	33,1	
po 2 dnech	32,8	32,7
	32,6	
	31,3	
po 4 dnech	31,8	32,4
	32,4	
	33,0	
po 12 dnech	33,9	31,9
	31,9	
	31,9	
po 28 dnech	33,2	32,5
	31,6	
	32,7	

Tab. 9 Původní C_{ox} : 9,8

půda č. 2	C_{ox} (%)	$\emptyset C_{ox}$ (%)
po 1 dni	6,2	6,3
	6,4	
	7,3	
po 2 dnech	7,3	7,3
	9,2	
	7,3	
po 4 dnech	8,0	7,4
	6,7	
	7,5	
po 12 dnech	6,9	6,7
	6,6	
	7,1	
po 28 dnech	7,1	7,3
	7,4	
	7,2	

Tab. 10 Původní C_{ox} : 15,7

půda č. 3	C_{ox} (%)	$\emptyset C_{ox}$ (%)
po 1 dni	13,6	14,9
	14,8	
	15,0	
po 2 dnech	14,8	15,0
	14,9	
	15,1	
po 4 dnech	14,1	14,0
	13,8	
	14,1	
po 12 dnech	15,4	14,0
	14,0	
	14,0	
po 28 dnech	13,9	13,8
	13,7	
	15,1	

Tab. 11 Původní C_{ox} : 8,2

půda č. 4	C_{ox} (%)	$\emptyset C_{ox}$ (%)
po 1 dni	7,6	7,1
	7,0	
	7,1	
po 2 dnech	8,2	6,7
	6,6	
	6,9	
po 4 dnech	7,2	7,1
	7,4	
	6,9	
po 12 dnech	6,6	7,0
	7,0	
	7,4	
po 28 dnech	6,3	6,3
	6,4	
	6,3	

Tab. 12 Původní C_{ox} : 13,6

půda č. 5	Cox (%)	Ø Cox (%)
po 1 dni	12,5	12,5
	12,4	
	12,5	
po 2 dnech	10,1	10,2
	10,3	
	10,2	
po 4 dnech	11,7	11,8
	11,7	
	12,0	
po 12 dnech	10,0	10,1
	10,2	
	10,0	
po 28 dnech	10,2	9,9
	10,1	
	9,6	

Tab. 13 Původní C_{ox} : 5,4

půda č. 6	Cox (%)	Ø Cox (%)
po 1 dni	4,6	4,7
	4,7	
	4,2	
po 2 dnech	4,7	4,7
	4,9	
	4,4	
po 4 dnech	4,5	4,4
	4,2	
	4,4	
po 12 dnech	4,2	4,1
	4,1	
	4,0	
po 28 dnech	4,4	4,3
	4,4	
	4,1	

Tab. 14 Původní C_{ox} : 9,1

půda č. 7	Cox (%)	Ø Cox (%)
po 1 dni	8,6	8,9
	8,9	
	9,1	
po 2 dnech	8,8	8,6
	8,3	
	8,7	
po 4 dnech	8,1	8,5
	8,7	
	8,6	
po 12 dnech	11,1	8,6
	8,2	
	8,9	
po 28 dnech	8,5	8,5
	8,4	
	7,1	

Tab. 15 Původní C_{ox} : 10,2

půda č. 8	Cox (%)	Ø Cox (%)
po 1 dni	8,3	9,3
	9,1	
	9,5	
po 2 dnech	8,9	8,6
	8,4	
	8,5	
po 4 dnech	9,6	9,4
	8,6	
	10,0	
po 12 dnech	8,4	9,1
	10,0	
	8,9	
po 28 dnech	8,2	8,1
	7,6	
	8,6	

Tab. 16 Původní C_{ox} : 8,4

půda č. 9	Cox (%)	Ø Cox (%)
po 1 dni	8,4	7,7
	7,9	
	6,9	
po 2 dnech	7,5	7,6
	7,5	
	7,8	
po 4 dnech	7,0	7,1
	7,2	
	7,2	
po 12 dnech	7,5	7,7
	8,0	
	7,7	
po 28 dnech	7,7	7,7
	7,6	
	7,8	

Tab. 17 Původní C_{ox} : 8,3

půda č. 10	Cox (%)	Ø Cox (%)
po 1 dni	7,8	7,6
	7,5	
	7,5	
po 2 dnech	7,7	7,6
	7,6	
	7,6	
po 4 dnech	7,3	7,2
	7,2	
	7,1	
po 12 dnech	7,7	7,7
	7,6	
	7,8	
po 28 dnech	7,6	7,6
	7,4	
	7,9	

Tato metoda byla navržena a vyzkoušena jako zjednodušení oproti práci s aparaturou Oxi Top Control AN 12 Merck. Rozklad organické hmoty je reakcí prvního řádu, u nichž reakční rychlost v každém okamžiku je úměrná koncentraci reagující látky. Tento vztah vyjadřuje rovnice:

$$dy/dt = K_1 (L - y) = K_1 \cdot L_z$$

kde: K_1 rychlostní konstanta

L celková koncentrace reakční látky

y koncentrace v čase t

L_z zbytková koncentrace reakční látky

integrací od 0 do t lze získat rovnici:

$$L_z = L \cdot e^{-K_1 t} = L \cdot 10^{-k_1 t}$$

Skutečná rychlost reakce se ustavičně mění a rovná se součinu rychlostní konstanty K_1 a okamžité koncentrace. Výsledky tedy lze zhodnotit tak, že nanese se do grafu na osu y zbytkovou koncentraci uhlíku v logaritmickém měřítku a na osu x čas ve dnech od počátku experimentu, dostaneme přímkou, jejíž směrnice odpovídá hodnotě $-k_1/2,303$.

Tab. 18

půda 1	% C _{ox}	k ₁
0	35,4	-
1	34,3	0,377
2	32,7	0,738
4	32,4	0,487
12	31,9	-
28	32,5	-

Tab. 19

půda 2	% C _{ox}	k ₁
0	9,8	-
1	6,3	-
2	7,3	-
4	7,4	0,372
12	6,7	-
28	7,3	-

Tab. 20

půda 3	% C _{ox}	k ₁
0	15,7	-
1	14,9	0,547
2	15	0,230
4	14	0,563
12	14	0,188
28	13,8	-

Tab. 21

půda 4	% C _{ox}	k ₁
0	8,2	-
1	7,1	0,865
2	6,7	0,779
4	7,1	-
12	7	-
28	6,3	-

Tab. 22

půda 5	% C _{ox}	k ₁
0	13,6	-
1	12,5	0,353
2	10,2	1,256
4	11,8	-
12	10,1	0,243
28	9,9	-

Tab. 23

půda 6	% C _{ox}	k ₁
0	5,4	-
1	4,7	0,511
2	4,7	0,255
4	4,4	0,301
12	4,1	-
28	4,3	-

Tab. 24

půda 7	% C _{ox}	k ₁
0	9,1	-
1	8,9	0,406
2	8,6	0,896
4	8,5	-
12	8,6	-
28	8,5	-

Tab. 25

půda 8	% C _{ox}	k ₁
0	10,2	-
1	9,3	0,560
2	8,6	0,718
4	9,4	-
12	9,1	-
28	8,1	-

Tab. 26

půda 9	% C _{ox}	k ₁
0	8,4	-
1	7,7	0,773
2	7,6	0,478
4	7,1	-
12	7,7	-
28	7,7	-

Tab. 27

půda 10	% C _{ox}	k ₁
0	8,3	-
1	7,6	1,012
2	7,6	0,506
4	7,2	-
12	7,7	-
28	7,6	-

Při dosazení získaných dat do výše uvedených rovnic se však ukázalo, že rychlostní konstanty vykazují neadekvátní rozptyl hodnot a tudíž není možno potvrdit ani vyvrátit předpokládaný průběh rozkladu organické hmoty. Navíc některé hodnoty bylo nutno vyškrtnout, protože neodpovídají logickému předpokladu, že v průběhu experimentu musí zákonitě docházet pouze k úbytku uhlíku a nikoli k jeho přírůstku. Ten by mohl být způsoben jedinečně vnějším zásahem do experimentu. Tato skutečnost byla zapříčiněna příliš velkou experimentální chybou a to z těchto možných důvodů:

- 1) nepřesné navažování vzorků
- 2) chybné provedení kvantitativního převedení vzorků do odpařovacích misek
- 3) ulpění části odparků v odpařovacích miskách
- 4) nedostatečná homogenizace těchto odparků
- 5) vyšší chyba při stanovení C_{ox} titrátořem vlivem malé navážky vzorků
- 6) vnější znečištění organickým materiálem

Pravděpodobně faktorem, který nejvíce ovlivnil výsledky byly z výše uvedeného seznamu body 3 a 4, odchylka při navažování vzorků u žádného nepřevýšila 1 % z hmotnosti vzorku. Vnější znečištění lze vyloučit taktéž. Zbývající dva faktory mohly ovlivnit výsledek jen mírně.

I když tato metoda v současném provedení není vhodná pro posouzení rozložitelnosti půdní organické hmoty, kvůli vysoké experimentální chybě, která přesahuje o jeden až dva řády přesnost, jaká by byla potřebná pro získání přesných výsledků, z výsledků lze odvodit, že mikroorganismy kalu jsou schopny odbourat pouze malé množství labilní organické

hmoty, zato však již během jednoho až dvou dní, přičemž většina uhlíku zůstává i po delší době (28 dní) jejich činností nedotčena.

4.2.5 Metoda OXI TOP CONTROL

Tab. 28. Množství vyprodukovaných molů plynů CO₂ a CH₄ při inkubaci půd 1-10

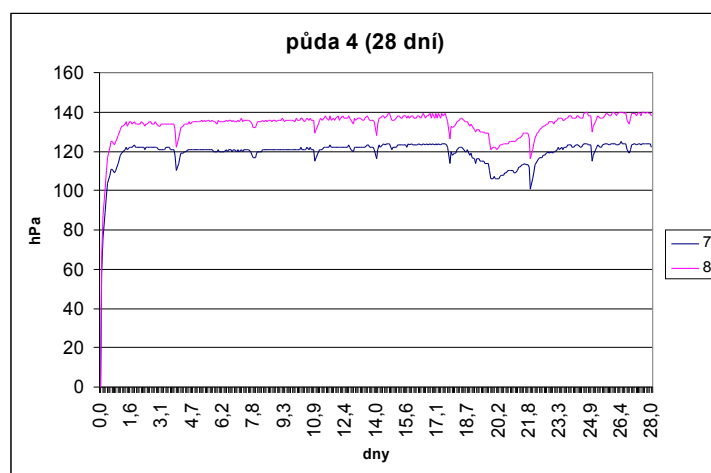
Půda	Láhev	n_{CO2} g CH₄	n_{CO2} l	n_{CO2} l, CO₂ g	n_{CH₄}	n_{celk}
1	1	0,00057	0,00032	-0,00008	0,00081	0,00089
	2	0,00081	0,00014	-0,00015	0,00079	0,00095
2	3	0,00050	0,00047	0,00003	0,00100	0,00097
	4	0,00077	0,00037	-0,00018	0,00095	0,00113
3	5	0,00051	0,00034	-0,00007	0,00078	0,00085
	6	0,00086	0,00031	-0,00007	0,00110	0,00117
4	7	0,00073	0,00065	0,00053	0,00191	0,00138
	8	0,00080	0,00065	0,00037	0,00182	0,00145
5	9	0,00072	0,00013	-0,00004	0,00080	0,00085
	10	0,00074	-0,00008	-0,00020	0,00046	0,00066
sl	11	0,00077	0,00005	0,00040	0,00122	0,00082
	12	0,00074	0,00104	0,00110	0,00288	0,00178
6	1	0,00011	0,00011	-0,00022	0,00001	0,00022
	2	0,00016	0,00009	-0,00024	0,00001	0,00025
7	3	0,00017	0,00008	-0,00036	-0,00011	0,00025
	4	0,00041	0,00008	-0,00036	0,00013	0,00048
8	5	0,00037	0,00008	-0,00036	0,00009	0,00045
	6	0,00069	0,00008	-0,00024	0,00053	0,00077
9	7	0,00109	0,00013	-0,00044	0,00078	0,00122
	9	0,00101	0,00021	-0,00046	0,00076	0,00122
10	10	0,00052	0,00016	-0,00046	0,00021	0,00067
	11	0,00176	0,00016	-0,00028	0,00164	0,00192
sl	12	0,00187	0,00023	0,00009	0,00219	0,00210

Naměřené hodnoty vykazují značnou variabilitu. Na grafech je vidět, že hlavní produkce plynů trvá pouze 1,5 – 2 dny, proto můžeme zbývající úsek naměřených křivek považovat za nedůležitý a věnovat pozornost pouze tomuto rychlému a prudkému nárůstu tlaku.

Tab. 29. Úbytek uhlíku během pokusu při inkubaci půd 1 - 10

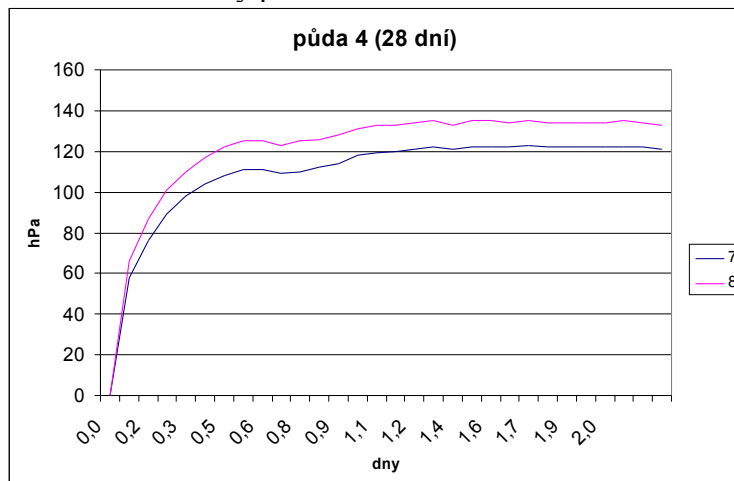
Půda	Láhev	Původní obsah C _{ox}	Obsah C _{ox} po pokusu	Rozdíl	Rozdíl v %
1	1	35,4	30,5	4,9	13,8
	2	35,4	30,9	4,5	12,7
2	3	9,8	7,2	2,6	26,5
	4	9,8	7,7	2,1	21,4
3	5	15,7	13,4	2,3	14,6
	6	15,7	14,0	1,7	10,8
4	7	8,2	7,3	0,9	11,0
	8	8,2	7,3	0,9	11,0
5	9	13,6	9,5	4,1	30,1
	10	13,6	10,3	3,3	24,3
6	1	5,4	4,6	0,8	14,8
	2	5,4	4,8	0,6	11,1
7	3	9,1	nezjištěno	-	-
	4	9,1	nezjištěno	-	-
8	5	10,2	10,1	0,1	1,0
	6	10,2	9,3	0,9	8,8
9	7	8,4	7,2	1,2	14,3
	9	8,4	7,3	1,1	13,1
10	10	8,3	7,3	1,0	12,0
	11	8,3	7,6	0,7	8,4

Graf 8 Typický průběh tlaku během tohoto pokusu



Následuje zvětšená část předchozího grafu. Je dobře patrné, že rozklad organické hmoty probíhal po velmi krátkou dobu tj. 1 – 1,5 dne. Z toho vyplývá že spektrum rozložených látek spadá do kategorie lehce rozložitelných.

Graf 9. První 2 dny pokusu



Velmi prudký nárůst tlaku v počátečních hodinách pokusu je způsoben rozložením nejlabilnější části organické hmoty činností mikroorganismů, avšak též částečně roztažením plynu ohřevem při vložení inkubační láhve do termostatu.

4.2.6 Porovnání metod

Cílem práce bylo navrhnout metodu hodnocení lability půdní organické hmoty. Vhodnost pro praktické použití, shrnuje tabulka č. 30, kde jsou heslovitě uvedeny výhody a nevýhody odzkoušených metod. Je třeba upozornit na skutečnost, že původně bylo zamýšleno odzkoušet pouze první metodu, ale v průběhu výzkumu se ukázalo, že ta nebude vhodná pro provozní použití. Tím vyvstala potřeba variantního řešení. Proto jsme přistoupili k odzkoušení dalších tří metod. Při řešení cíle bylo provedena řada pracných pokusů a nebylo tedy možno v rámci diplomové práce přivést tyto metody k úplné dokonalosti. Jsem ale přesvědčen, že poslední dvě metody, pokud se podaří odstranit potíže v laboratorním provedení, představují do budoucna jistou míru potenciálu.

Tab. 30 Vlastnosti odzkoušených metod

Metoda	Výhody	Nevýhody
Sekvenční extrakce	✓ extrahuje i méně labilní látky	• provozní a ekonomická náročnost
Postupná oxidace	✓ levná a jednoduchá s přesnými výsledky ✓ dobře charakterizuje půdy	• rozděluje SOM pouze na dvě frakce
Anaerobní rozklad	✓ levná ✓ snadné provedení	• nedostatečná přesnost stanovení úbytku uhlíku • velká nepřesnost výsledků
OXI TOP CONTROL	✓ přesné stanovení průběhu rozkladu	• vyšší náklady a náročnost na provedení • nedostatečná přesnost stanovení úbytku uhlíku

Shrnutí výsledků a porovnání všech metod u 11 vzorků půd, které byly analyzovány většinou z odzkoušených metod (tab. 31), při použití dalších údajů upřesňujících povahu zkoumaných vzorků.

Tab. 31. Porovnání frakce labilního uhlíku stanoveného jednotlivými metodami

půda	C _{ox}	horizont	SE	PO	AR	OTC	S _H
1	35,4	-	-	90,8	8,2	13,3	-
2	9,8	A _t	-	40,0	25,5	24,0	9,7
3	15,7	O _f	-	28,9	12,1	12,7	3,5
4	8,2	H _r	-	36,8	23,2	11,0	4,8
5	13,6	-	-	42,1	27,2	27,2	-
6	5,4	-	-	25,6	20,4	13,0	-
7	9,1	-	-	33,8	6,6	-	-
8	10,2	O _h	-	49,3	20,6	4,9	11,1
9	8,4	-	-	47,8	8,3	13,7	-
10	8,3	-	-	35,7	8,4	10,2	-
2 Měl.	1,5	-	9	4,5	-	-	-

horizont - organické a organominerální povrchové diagnostické horizonty podle Němečka (2001)

SE – procentuální obsah uhlíku ve frakci A, B, C u metody **sekvenční extrakce** z celkového uhlíku

PO – teoretický obsah labilní organické hmoty stanovený metodou **postupné oxidace** určený jako bod protnutí osy y regresní přímkou

AR – procento rozloženého uhlíku z celkového u metody **anaerobního rozkladu**

OTC – procento rozloženého uhlíku z celkového u metody **OXI TOP CONTROL**

S_H – stupeň humifikace

5. ZÁVĚR

Současné metody hodnocení půdních organických látek nedostatečně charakterizují jejich stabilitu či labilitu. Cílem práce je navrhnout metodu hodnocení stability půdních organických látek. Odkoušeny byly čtyři odlišné metody z nichž dvě jsou založeny na chemickém principu a dvě na mikrobiologickém. První metoda je založena na sekvenční frakcionaci půdní organické hmoty systémem rozpouštědel se vzrůstající polaritou. Druhá využívá k rozdělení frakcí půdní organické hmoty oxidovadlo s různou oxidační silou. Ve třetí metodě je organická hmota odbourávána mikroorganismy v anaerobním prostředí. Stejně tak čtvrtá metoda, která navíc využívá aparaturu pro měření vyprodukovaného plynu.

Ukázalo se, že metoda sekvenční extrakce není vhodná pro praktické použití, z obou chemických metod je výhodnější postupná oxidace, která velmi přesně rozděluje půdní organickou hmotu na labilní a stabilní část. Z metody postupné oxidace i obou anaerobních metod vyplývá, že k rozkladu nejdůležitější části půdní organické hmoty dochází velmi rychle, resp. již při použití slabého oxidovadla. Tato frakce je pro hodnocení rozložitelnosti nejdůležitější a je pro jednotlivé půdy charakteristická tím, že určuje jejich potenciální úrodnost. Po rozložení této části SOM se její zbytek rozkládá pomalu a lineárně nebo použité mikroorganismy nejsou schopny ji již dále rozkládat.

Metody využívající k hodnocení stability půdní organické hmoty anaerobních mikroorganismů jsou vhodné především pro hodnocení nejlabilnější frakce. V případě odstranění jejich nedostatků, způsobených především přesností laboratorní práce, nabízejí se tyto jako perspektivní pro praktické použití.

Diferenční termická analýza byla použita v případě sekvenční extrakce a postupné oxidace. U první metody se projevily rozdíly mezi jednotlivými frakcemi, avšak k podrobné identifikaci látek neposkytla dostatečné množství informací. DTA se k charakteristice jednotlivých frakcí získaných metodou postupné oxidace nehodí.

6. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

Achard, F., K. Crells Chem. Ann., 1786, 2, 391 s.

Alexandrovová, L. N. Gumusovyje veščestva počvy (ich obrazovanije, svojstva i značenije v počvoobrazovaniji i plodorodiji). Zap. LSCHI, 1970, 142 s.

Alexandrovová, L. N. O nomenklature, primeňajemoj v učeniji o počvennom gumuse. Počvovedenije, 1975, 2, s. 61-66

de Andrade, C. A., de Oliveira, C., Cerri, C. C. Organic matter quality and carbon and nitrogen stocks in an oxisol treated with biosolids and cultivated with eucalyptus. Revista Brasileira de Ciencia do Solo, 2005, 29 (5), s. 803-816

Barančíková, G., Senesi, N., Brunetti, G. Chemical and spectroscopic characterization of humic acids isolated from different Slovak soil types. Geoderma, 1997, 78 (3-4), s. 251-266

Blair, G., Lefroy, R., Lise, L. Soil carbon fractions based on their degree of oxidation, and the development of a carbon management index for agricultural systems. Australian Journal of Experimental Agriculture, 1995, 46, č. 7, s. 1459-1466

Bremer, E., Janzen, H. H., Johnston, A. M. Sensitivity of total, light fraction and mineralizable organic-matter to management-practices in a Lethbridge soil. Canadian Journal of Soil Science, 1994, 74 (2), s. 131-138

Cambardella, C. A., Elliot, E. T. Methods for physical separation and characterization of soil organic-matter fractions. Geoderma, 1993, 56 (1-4), s. 449-457

Capriel, P., Beck, T., Borchert, H., Gronholz, J., Zachmann, G. Hydrophobicity of the organic matter in arable soils. Soil Biol. Biochem., 1995, 27, s. 1453-1458

Capriel, P. Hydrophobicity of organic matter in arable soils: influence of management. Europ. J. Soil Sci., 1997, 48, s. 457-462

Crow, S. E., Sulzman, E. W., Rugh, W. D., Bowden, R. D., Lajtha, K. Isotopic analysis of respired CO₂ during decomposition of separated soil organic matter pools. Soil Biology & Biochemistry, 2006, 38 (11), s. 3279-3291

Dragunov, S. Charakteristika guminovych kislot različnogo proischoždenija. Trudy jub. ses., Moskva, 1949, s. 219-225

Drozd, J., Gonet, S. S., Senesi, N., Weber, J., Eds. The Role of Humic Substances in the Ecosystems and in Environmental Protection. PTSH-Polish Society of Humic Substances, Wroclaw, Poland, 1997

Ekschmitt, K., Liu, M., Q., Vetter, S., Fox, O., Wolters, V. Strategies used by soil biota to overcome soil organic matter stability – why is dead organic matter left over in the soil? Geoderma, 2005, 128 (1-2), s. 167-176

Eusterhues, K., Rumpel, C., Kleber, M., Kogel-Knabner, I. Stabilisation of soil organic matter by interactions with minerals as revealed by mineral dissolution and oxidative degradation. *Organic Geochemistry*, 2003, 34 (12), s. 1591-1600

Eckschlager K., Horsák I., Kodejš Z., 1980: Vyhodnocování analytických výsledků a metod. SNTL Praha, 1. vyd., 223 s.

Flaig, W. The chemistry of humic substances. In: The use of isotopes in soil organic matter studies. Oxford, Pergamon Press, 1966, s. 103-128

Flaig, W. Gedanken zur Nomenklatur der im Boden vorhandenen organischen Stoffe. Braunschweig, 1964, rkp.

Galvdo, S. R. D., Salcedo, I. H., dos Santos, A. C. Carbon and nitrogen fractions as affected by ley texture, relief and land use in the VACA brava watershed. *Revista Brasileira de Ciéncia do Solo*, 2005, 96 (6), s. 955-962

Gelsomino, A., Badalucco, L., Landi, L., Cacco, G. Soil carbon, nitrogen and phosphorus dynamics as affected by solarization alone or combined with organic amendment. *Plant and Soil*, 2006, 279 (1-2), s. 307-325

Ghani, A., Dexter, M., Perrott, K. W. Hot-water extractable carbon in soils; a sensitive measurement for determining impacts of fertilisation, grazing and cultivation. *Soil Biology & Biochemistry*, 2003, 35 (9), s. 1231-1243

Perdue, E. M., Gjessing, E. T. *Organic Acids in Aquatic Ecosystems*, Dahlem Konferenzen. Chichester: John Wiley & Sons Ltd., 1990, 345 s.

Graham, M. H., Haynes, R. J. Organic matter status and the size, activity and metabolic diversity of the soil microbial community in the row and inter-row of sugarcane under burning and residue retention. *Soil Biology & Biochemistry*, 2006, 38 (1), s. 21-31

Gregorich, E. G., Beare, M. H., Stoklas, V., St. Georges P. Biodegradability of soluble organic matter in maize-cropped soils. *Geoderma*, 2003, 113 (3-4), s. 237-252

Haynes, R. J. Labile organic matter fractions as central components of the quality of agricultural soils. *Advances in Agronomy*, 2005, 85, s. 221-268

Hu, S., Coleman, D. C., Carrol, C. R., Hendrix, P. F., Beare, M. H. Labile soil carbon pools in subtropical forests and agricultural ecosystems as influenced by management practices and vegetation types. *Agriculture Ecosystems & Environment*, 1997, 65 (1), s. 69-78

Chan, K. Y., Bowman, A., Oates, A. Oxidizable organic carbon fractions and soil quality changes in an oxic Paleustalf under different pasture leys. *Soil Sci.*, 2001, 166, 1, s. 61-67

Jiang, P. K., Xu, Q. F. Abundance and dynamics of soil labile carbon pools under different types of forest vegetation *Pedosphere*, 2006, 16 (4), s. 505-511

Karbozova-Saljniov, E., Funakawa, S., Akhmetov, K., Kosaki, T. Soil organic matter status of Chernozem soil in North Kazakhstan. *Soil Biology & Biochemistry*, 2004, 36 (9), s. 1373-1381

Kautika, L. S., Hauser, S., Henrot, J. Soil organic matter assessment in natural regrowth, *Pueraria phaseoloides* and *Mucuna pruriens* fallow. *Soil Biology & Biochemistry*, 2001, 33 (7-8), s. 1095-1101

Kawasaki, S., Maie, N., Watanabe, A. Composition of humic acids with respect to the degree of humification in cultivated soils with and without manure application as assessed by fractional precipitation. *Soil science and plant nutrition*, 2008, 54 (1), s. 57-61

Kolář, L. *Organické hnojení a humus*. 1. vyd. Praha: Vysoká škola zemědělská, 1988, 106 s.

Kolář L. Úloha organické hmoty v půdě (The effect of organic matter in soil). Proceeding from conference „Effect of organic fertilizers in contemporary agriculture“, CAU Prague, 1997. s. 26-30. ISBN 80-213-0342-5

Kolář, L., Kužel, S. Organická hmota v půdě. Sborník „Racionální použití hnojiv“, Mze ČR, ČZU Praha, MZLU Brno, VŠZ Nitra – Vyd. ČZU Praha, 1999, ISBN 80-213-0560-6, s.15-19

Kolář L., Gergel J., Ledvina R., Kužel S., Šindelářová M. Agrochemická charakteristika půd horských a podhorských oblastí jihovýchodní Šumavy. *Rostl. Výr.*, 2000a. č. 46, s. 533-542

Kolář L., Gergel J., Ledvina R., Kužel S., Šindelářová M. Železo, hliník a mikrobiální aktivita půd horských a podhorských oblastí jihovýchodní Šumavy. *Rostl. Výr.*, 2000b. č. 46, s. 543-548

Kolář L., Gergel J., Šindelářová M., Kužel S. Impact of farming intensity reduction in the Šumava foothills region on changes in soil organic matter and surface water quality. *Rostl. Výr.*, 2002. č. 48, s. 377-381

Kolář L., Klimeš F., Ledvina R., Kužel S.: A method to determine mineralization kinetics of a decomposable part of soil organic matter in the soil. *Plant Soil Environ.* 2003. 49, s. 8-11

Kolář L., Kužel S., Hanušová A., Gergel J., Ledvina R., Šindelářová M., Silovská Š., Štindl P. The use of Spectroquant Merck BOD photometric test to evaluate the stability of organic matters in soil. *Plant Soil Environ.* 2005. 51, s. 46-50

Kolář, L., Ledvina, R., Kužel, S., Klimeš, F., Štindl, P. Soil organic matter and its Stability in aerobic and anaerobic Conditions. *Soil Water Research*, 2006, 1 (2), s. 57-64

Kononová, M. M., Belčíková, N. P. Uskorennyje metody opredelenija sostava gumusa mineral'nych počv. *Počvovedenije*, 1961, č. 10, s. 75-87

Kononová, M.M. *Soil organic matter - its nature, its role in soil. Formation and Soil Fertility*, Pergamon Press, Oxford, 1961

Körschens, M. Beziehungen zwischen Feinanteil, C_t und N_t – Gehalt des Bodens. *Arch. Acker-Pfl. Boden.*, 1980, 24, s. 585–592.

Körschens M., Schulz E., Behm R. Heisswasserlöslicher C und N im Boden als Kriterium für das N-Nachlieferungsvermögen. Zbl. Mikrobiol. Jena, 1990. 145, s. 305-311

Kovář, J. Využití termoanalytických metod při studiu lignitických huminových látek. Dipl. práce, VUT Brno, 2003, 90 s.

Kubát, J., Vrzáková, E. Stanovení rozložitelné části humusu v různých půdách ČSR. Rostl. výroba, 1984, roč.30, č.7, s.1145-1149

Kubát, J., Veselý, L. Další možnosti stanovení rozložitelné části humusu v různých půdách. Rostl. výroba, 1986, roč.32, č.6, s.643-648

Kubát, J. Organic carbon cycle, incidence of microorganisms and respiration activity in long-term field experiment. Rostl. výr, 1999, 45, s. 389

Kužel S., Kolář L., Ledvina R., Povilaitis A. Soil organic matter and humic substances – why to differentiate these terms in university education. *Jornal „Humic substances in ecosystem 4“*. Editor Prof. Gonet. Výzkumný ústav pôdoznavectva a ochrany pôdy Bratislava, Slovenská poľnohospodárska univerzita Nitra, 2001a, s. 75-78

Kužel S., Kolář L., Ledvina R., Spalevič V.: Transformation soil organic matter in mountain and submountain regions of Šumava in comparison with České Budějovice basin. *„Humic substances in ecosystem 4“*. Editor Prof. Gonet. Výzkumný ústav pôdoznavectva a ochrany pôdy Bratislava, Slovenská poľnohospodárska univerzita Nitra, 2001b, s. 79-83

Ladd, J., Amato, M., van Veen, H. Soil microbial biomass: its assay and role in turnover of organic matter C and N. *Soil Biology & Biochemistry*, 2004, 36 (9), s. 1369-1372

Lagomarsino, A., Moscatelli, M. C., De Angelis, P., Grego, S. Labile Substates quality as the main driving force of microbial mineralization activity in a poplar plantation soil under elevated CO₂ and nitrogen fertilization. *Science of the total Environment*, 2006, 372 (1), s. 256-265

Lajtha, K., Crow, S. E., Yanc, Y., Kaushal, S. S., Sulzmann, E., Sollins, P., Spears, J. D. H. Detrital controls on soil solution N and dissolved organic matter in soils: a field experiment. *Biochemistry*, 2005, 76 (2), s. 261-281

Landgraf, D., Leinweber, P., Makeschin, F. Cold and hot water-extractable organic matter as indicator of litter decomposition in forest soils. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 2006, 169, č.1, s. 76-82

Leblanc, H. A., Nygren, P., McGraw, R. L. Green mulch decomposition and nitrogen release from leaves of two *Inga* spp. in an organic alley-cropping practice in the humid tropics. *Soil Biology & Biochemistry*, 2006, 38 (2), s. 349-358

Leifeld, J., Kogel-Knabner, I. Organic carbon and nitrogen in fine soil fractions after treatment with hydrogen peroxide. *Soil Biology & Biochemistry*, 2001, 33 (15), s. 2155-2158

- Liao, J. D., Boutton, T. W., Jastrow, J. D. Organic matter turnover in soil physical fractions following woody plant invasion of grassland: Evidence from natural C-13 and N-15. *Soil Biology & Biochemistry*, 2006, 38 (11), s. 3197-3210
- Maia, S. M. F., Xavier, F. A. S., Oliveira, T. S., Mendonca E. S., Filho, J. A. A. Organic carbon pools in a Luvisol under agroforestry and conventional farming systems in the semi-arid region of Ceara, Brazil. *Agroforestry Systems*, 2007, 71 (2), s. 127-138
- Majumder, B., Mandal, B., Bandyopadhyay, P. K., Chandhury, J. Soil organic carbon pools and productivity relationship for a 34 year old rice – wheat – jute agroecosystem under different fertilizer treatments. *Plant and Soil*, 2007, 297 (1-2), s. 53-67
- Majumder, B., Mandal, B., Bandyopadhyay, P. K. Soil organic carbon pools and productivity in relation to nutrient management in a 20-year-old rice-berseem agrosystem. *Biology and Fertility of Soils*, 2008, 44 (3), s. 451-461
- Marriot, E. E, Wander, M. M. Total and labile soil organic matter in organic and conventional farming systems. *Soil Science of America Journal*, 2006, 70 (3), s. 950-959
- Mendham, D. S., M., O'Connell, A. M., Grove, T. S. Organic matter characteristics under native forest, long-term pasture and recent conversion to Eucalyptus plantations in Western Australia. *Australian Journal of Soil Research*, 2002, 40 (5), s. 859-872
- Mendham, D. S., Heagney, E. C., Corbiebs, M., O'Connell, A. M., Grove, T. S., Mc Murtrie, R. E. Soil particulate organic matter effects on nitrogen availability after afforestation with *Eucalyptus globulus*. *Soil Biology & Biochemistry*, 2004, 36 (7), s. 1067-1074
- Mirsky, S. B., Lanyon, L. E., Needelman, B. A. Evaluating soil management using particulate and chemically labile soil organic matter fractions. *Soil Science Society of America Journal*, 2008, 72 (1), s. 180-185
- Najmr, S. Humus ve výrobně důležitých půdních typech. ČSAZV, SZN, Praha 1957, 205 s.
- Najmr. S. Soustava třídění organické půdní hmoty. *Rostl. výroba*, 1958, 31 (6-7), s. 661-692
- Němeček, J., Pospíšil, F. Frakční složení humusu zemědělsky využívaných hnědých půd. *Rostl. výroba*, 1970, roč. 16, č 11-12, s.1165-1176
- Němeček, J. Taxonomický klasifikační systém půd České republiky. ČZU Praha, VÚMOP Praha, 2001, ISBN 80-238-8061-6, 78 s.
- Ni, J. Z., Xu, J. M., Xie, Z. M., Wang, D. J. Changes of labile organic carbon fractions in soils under different rotation systems. *Pedosphere*, 2004, 14 (1), s. 103-109
- Novák, B. Využití biochemických testů v půdní mikrobiologii. Docent. habil. práce, VŠZ Praha, 1965
- Novák, B. Vztah látkové a energetické přeměny organických látek při humifikaci. *Rostl. výr.*, 1966, 12 (6), s. 709-711

Orlov, D. S. Voprosy identifikacii i nomenklatury gumusovykh veščestv. Počvovedenie, 1975, 2, s. 48-60

Orlov, D. S. Soil fulvic acids: History of study, importance, and reality. Eurasian Soil Science, 1999, 32 (9), s. 1044-1049

Oyonarte, C., Mingorance, M. D., Durante, P., Pinero, G., Barahona, E. Indicators of change in the organic matter in arid soils. Science of the total Environment, 2007, 378 (1-2), s. 133-137

Passos, R. R., Ruiz, H. A., Mendonca, E. D., Cantarutti, R. B., de Souza, A. P. Humic substances, microbial activity and labile organic carbon in aggregates of a dystrophic red latosol under two vegetation covers. Revista Brasileira de Ciencia do Solo, 2007, 31 (5), s.1119-1129

Pokorná, J. et al. Pracovní postupy biochemických a mikrobiologických testů. Praha-Ruzyně, VÚRV, 1980

Pospíšil, F. Fractionation of humus substances of several soil types in Czechoslovakia. Rostlinná výroba, 1964, 10, s. 567-580

Pospíšil, F., Drozdová, D. Optické vlastnosti humusových kyselin. Vědecké práce VÚVR, Praha- Ruzyně, 1967, 11, s. 9- 18

Quincke, J. A., Wortmann, C. S., Mamo, M., Drijber, R. A. Occasional tillage of no-till systems: Carbon dioxide flux and changes in total and labile soil organic carbon. Agromony Journal, 2007, 99 (4), s. 1158-1168

Rovira, P., Vallejo, V. R. Examination of thermal and acid hydrolysis procedures in characterization of soil organic matter. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 2000, 31, s. 81-100

Rovira, P., Vallejo, V. R. Labile and recalcitrant pools of carbon and nitrogen in organic matter decomposing at different depths in soil: an acid hydrolysis approach. Geoderma, 2002, 107 (1-2), s. 109-141

Rovira, P., Vallejo, V. R. Labile, recalcitrant and inert organic matter in Mediterranean forest soils. Soil Biology & Biochemistry, 39 (1), s. 202-215

Růžek, L., Voříšek, K., Nováková, M., Strnadová, S. Microbial, chemical and textural parameters of main soil taxonomical units of Czech Republic. Plant Soil Environ., 2006, 52, s. 29-35

de Saussure, T. Recherches Chemiques sur la Végétation. Paris, 1804, 244 s.

Shang, C., Tiessen, H. Organic matter lability in a tropical oxisol: Evidence from shifting cultivation, chemical oxidation, particle size, density and magnetic fractions. Soil Science, 1997, 162 (11), s. 795-807

Shirato, Y., Yokozawa, M. Acid hydrolysis to partition plant material into decomposable and resistant fractions for use in the Rothamsted carbon model. *Soil Biol Biochem.* 2006, 38 (4), s. 812-816

Schulten, H. R., Leinweber, P. Thermal stability and composition of mineral-bound organic matter in density fractions of soil. *European Journal of Soil Science*, 1999, 50 (2), s. 237-248

Schulz, E. Die heiswasserextrahierbare C-Fraction als Kenngröße zur Einschätzung des versorgungsreistsands mit organischer Substanz. Tag. – Ber., Akad Landwirtsch. Weiss., Berlin, 1990, 295, s. 269-275

Skjemstad, J., et al. Non-living soil organic matter: what do we know about it? *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 1998, 38, č. 7, s. 667-680

Soon, Y. K., Arshad, M. A., Haq, A., Lupwayi, N. The influence of 12 years of tillage and crop rotation on total and labile organic carbon in a sandy loam soil. *Soil & Tillage Research*, 2009, 95 (1-2), 38-46

Sotáková, S. Organická hmota a úrodnosť pôdy. 1. vyd. Bratislava: Príroda, vydavateľstvo kníh a časopisov, n. p., 1982. 234 s.

Sprengel C. Die Bodenkunde oder die Lehre vom Boden, Müller, Leipzig, 1837

Stevenson, F., J., Butler, J., H., A. Chemistry of Humic Acids and Related Substances, in G. Eglinton and M. T. J. Murphy, Eds., *Organic Geochemistry*, Springer-Verlag, New York, 1969, s. 534-557

Stevenson F.J. *Humus Chemistry: Genesis, composition, reactions.* 2nd ed. New York, Brisbane, Toronto, Singapore, 1994. ISBN 0-471-59474-1

Šantrůčková H., Bird M. I., Elhottová D., Novák J., Pícek T., Šimek M., Tykva R. Heterotrophic CO₂ fixation in soil. *Microbial Ecology*, 2005, 49, s. 1-8

Tjurin, I. V. Nekotoryje rezul'táty rabot po sravnitel'nomu izučeniju sostava gumusa v počvach SSSR. *Trudy počv. inst.*, 1951, 38, s. 22-32

Vieira, F. C. B., Bayer, C., Zanatha, J. A., Dieckow. J, Mielniczuk, J., He, Z. L. Carbon management index based on physical fractionation of soil organic matter in an Acrisol under long-term no-till cropping systems. *Soil & Tillage Research*, 2007, 96 (1-2), s. 195-204

Walkley, A., Black, I., A. An examination of the Degtjarebb method for determing soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Sci.*, 1934, 27, s. 29-38

Wander, M. M., Traina, S. J., Stinner, B. R., Peters, S. E. Organic and conventional management effects on biologically – active soil organic matter pools. *Soil Science Society of America Journal*, 1994, 58 (4), s. 1130-1139

Weigel A., Kubát J., Körschens M., Powlson D., Mercik S. Determination of the decomposable part of soil organic matter in arable soils. *Arch. Acker-Pfl. Boden.* 1998, 43, s. 123-143

Williams, A., Xing, B. S., Veneman, P. Effect of cultivation on soil organic matter and aggregate stability. *Pedosphere*, 2005, 15 (2), s. 255-262

Zaujec, A. Soil organic matter as indicator of soil quality and human influences on agroecosystem and natural forest ecosystem. *Ekologia*, Bratislava, 2001, 20, s 133-139

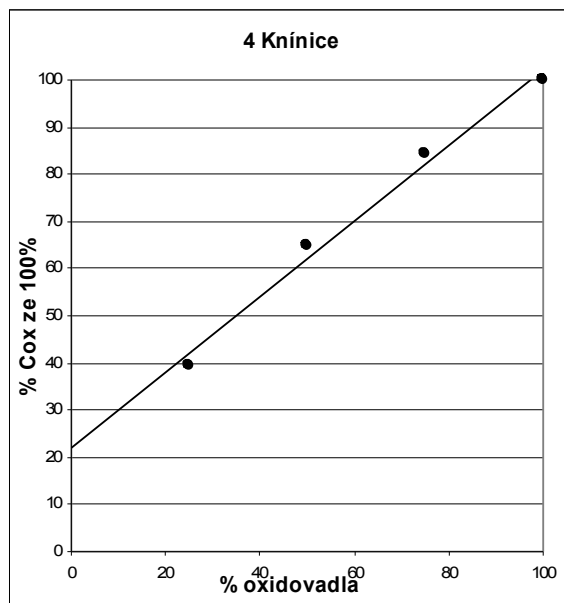
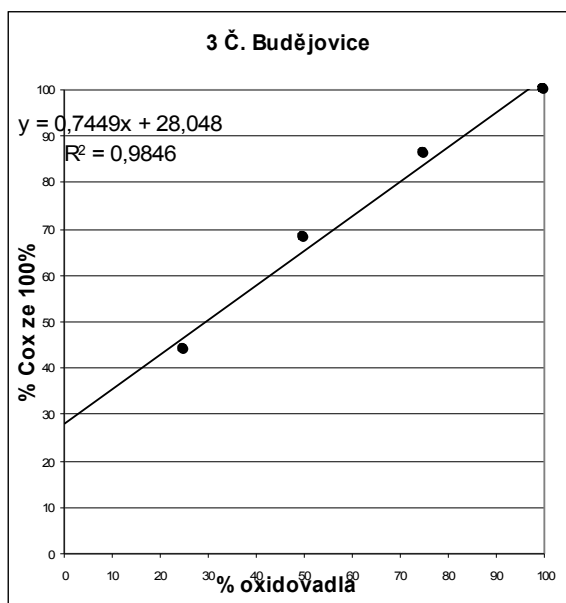
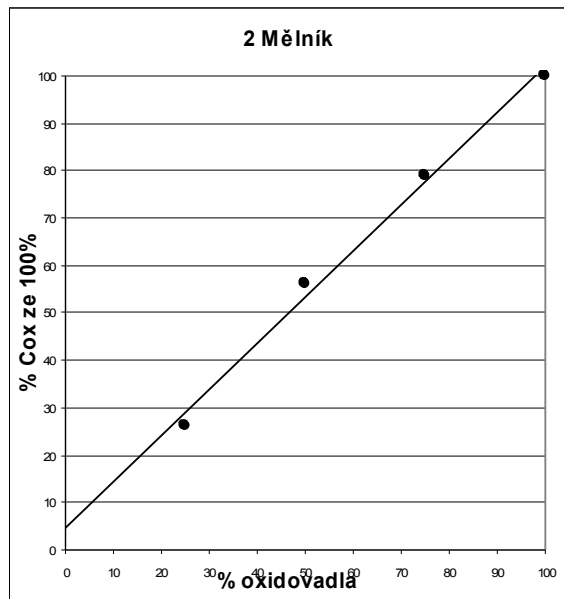
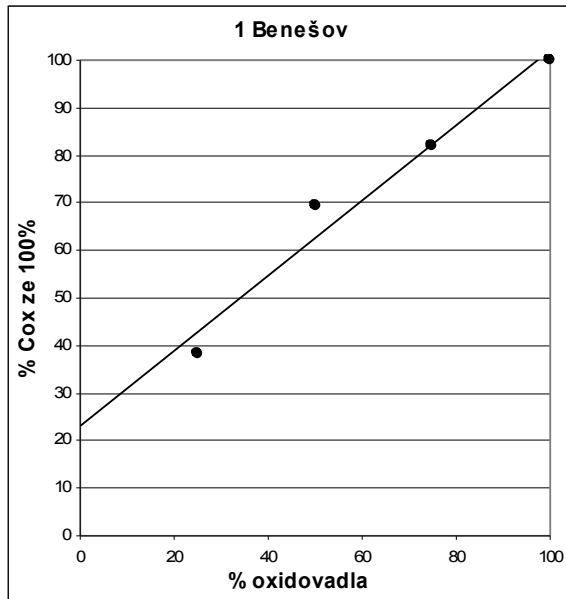
Zhang, T. Q., Drury, C. F., Kay, B. D. Soil dissolved organic carbon; Influences of water-filled pore space and red clover addition and relationship with microbial biomass carbon. *Canadian Journal of Soil Sciences*, 2004, 84 (2), s. 151-158

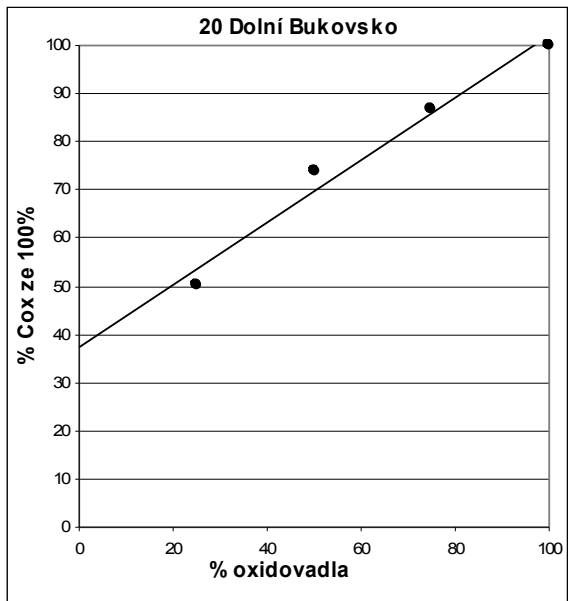
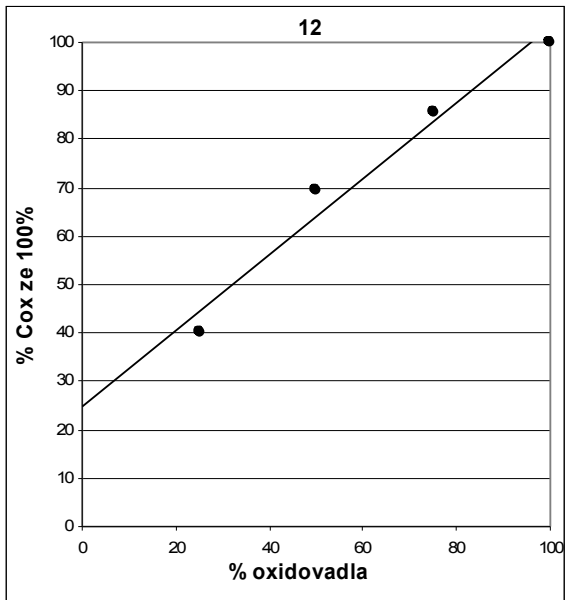
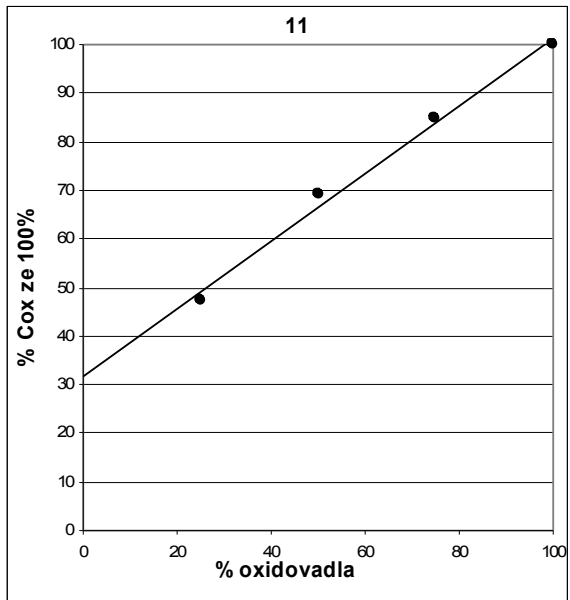
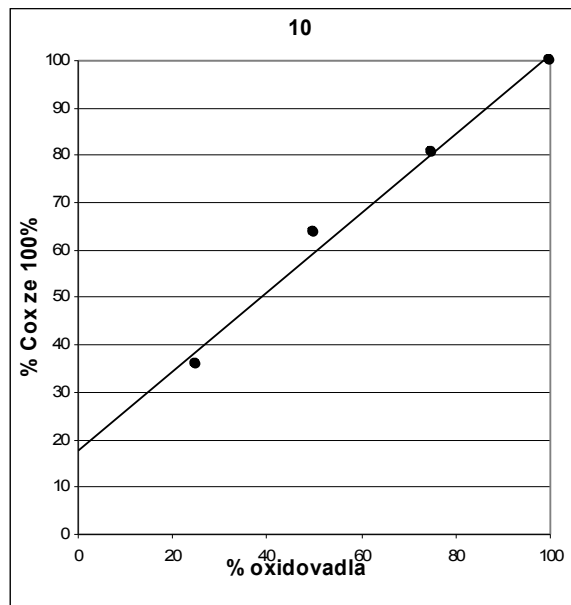
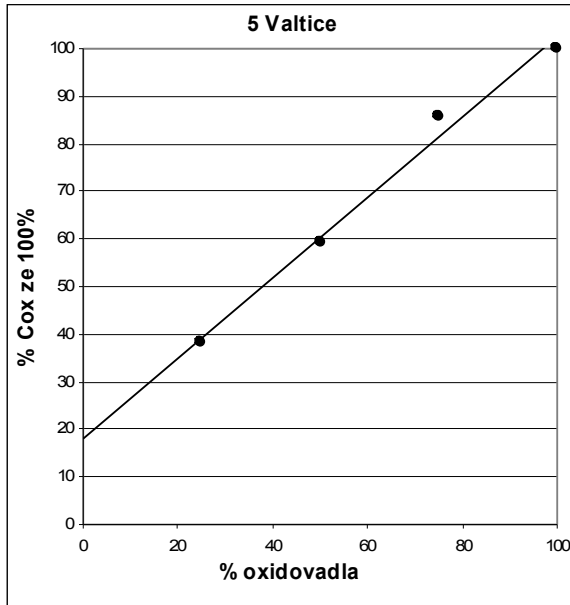
Zhang, J. B., Song, C. C., Yang, W. Y. Land use effects on the distribution of labile organic carbon fractions through soil profiles. *Soil Science Society of America Journal*, 2006, 70 (2), s. 660-667

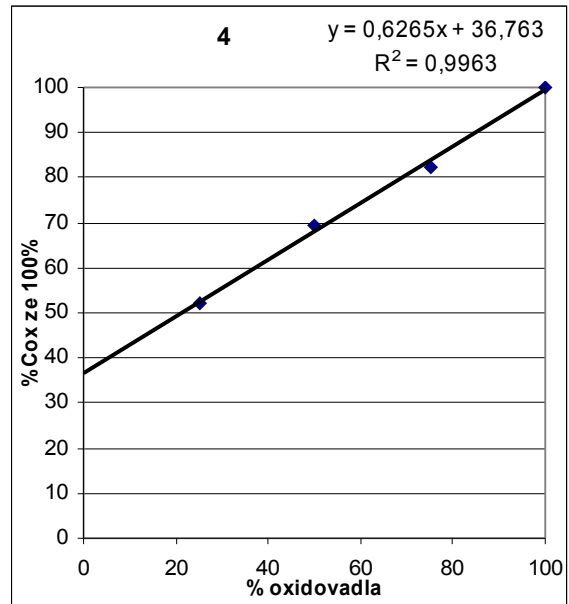
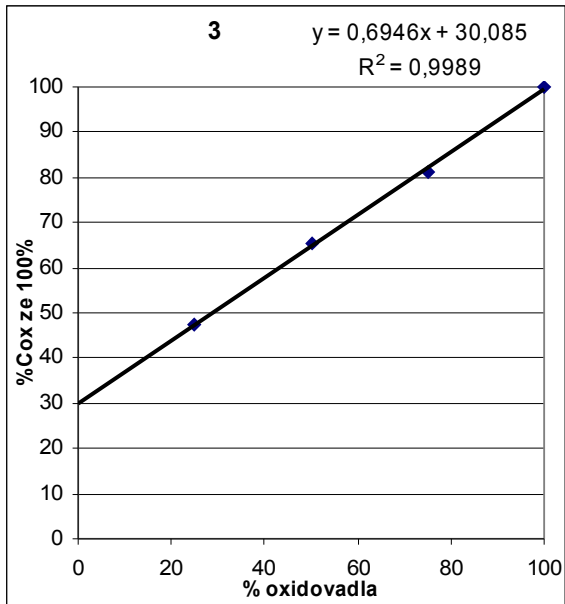
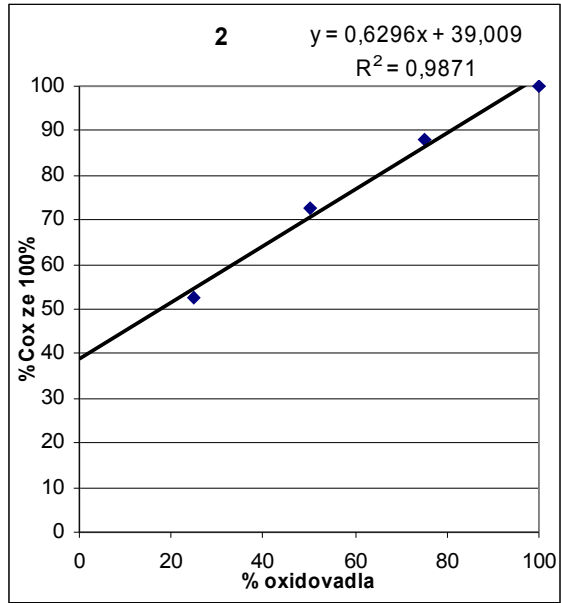
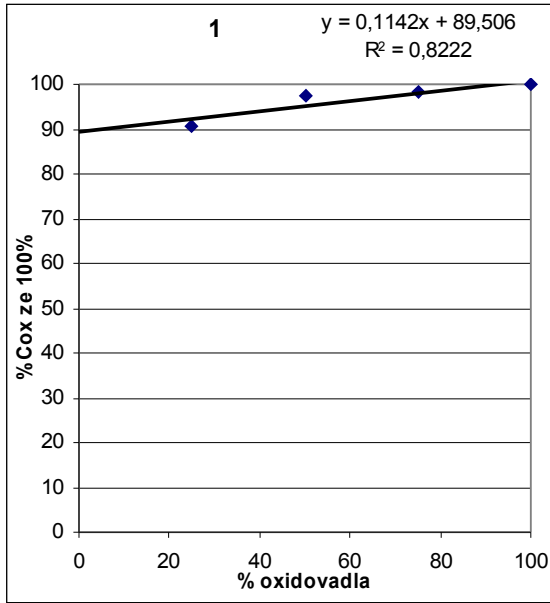
Zinn, Y. L., Resck, D. V. S., da Silva, J. E. Soil organic carbon as affected by afforestation with Eucalyptus and Pinus in the Cerrade region of Brazil. *Forest Ecology and Management*, 2002, 166 (1-3), s. 285-294

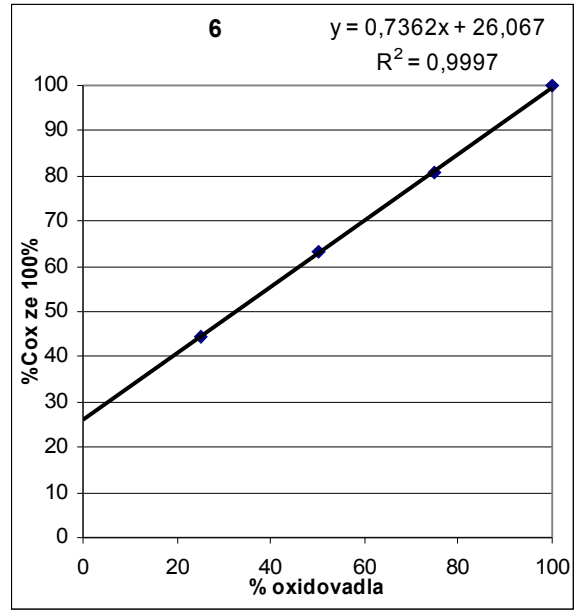
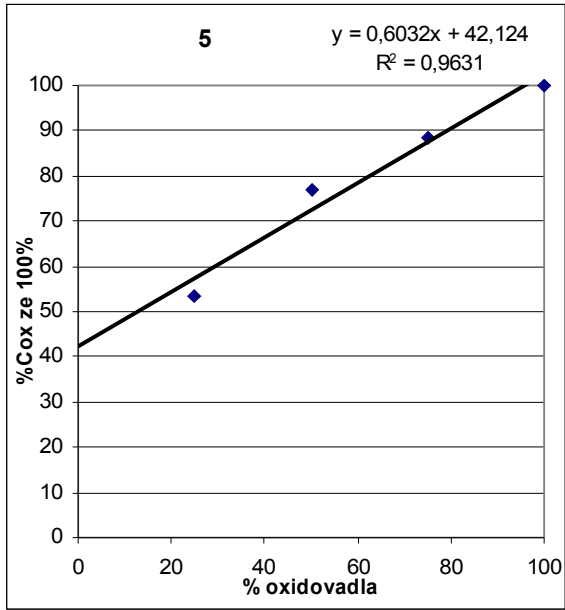
7. PŘÍLOHY

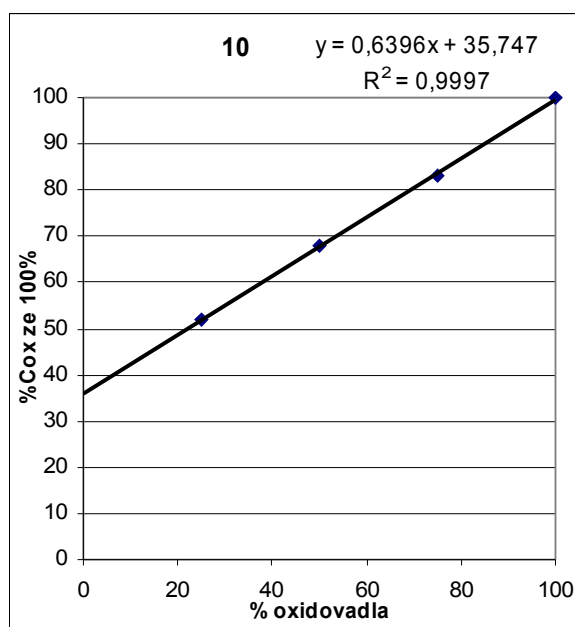
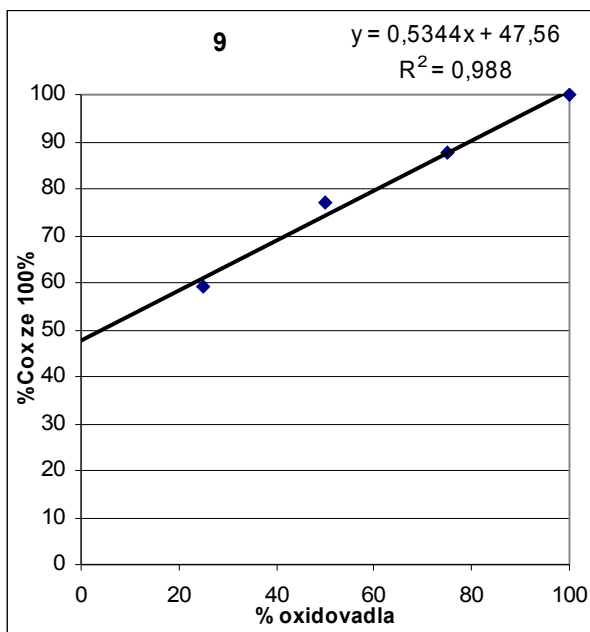
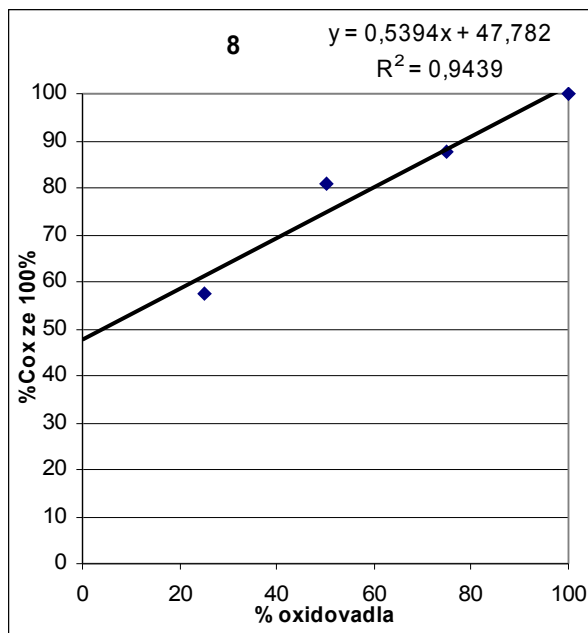
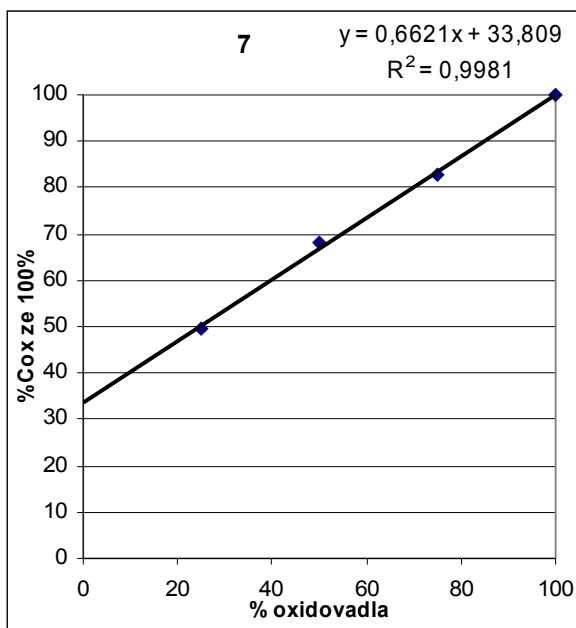
7.1 Graficky zpracované výsledky metody postupné oxidace





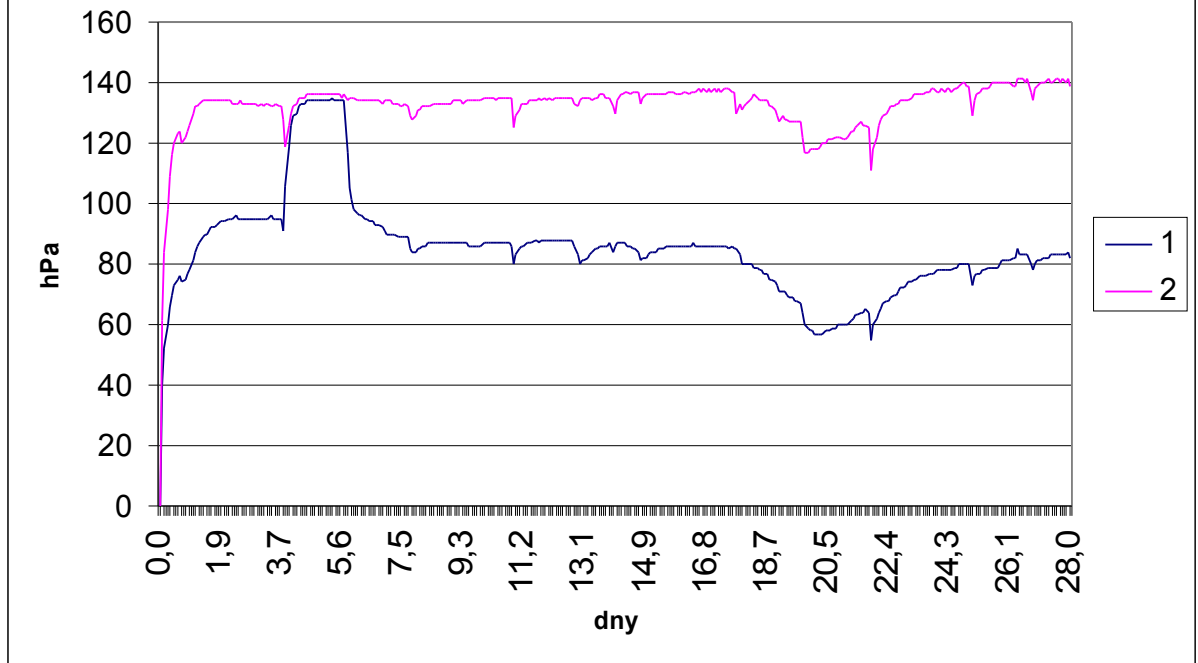


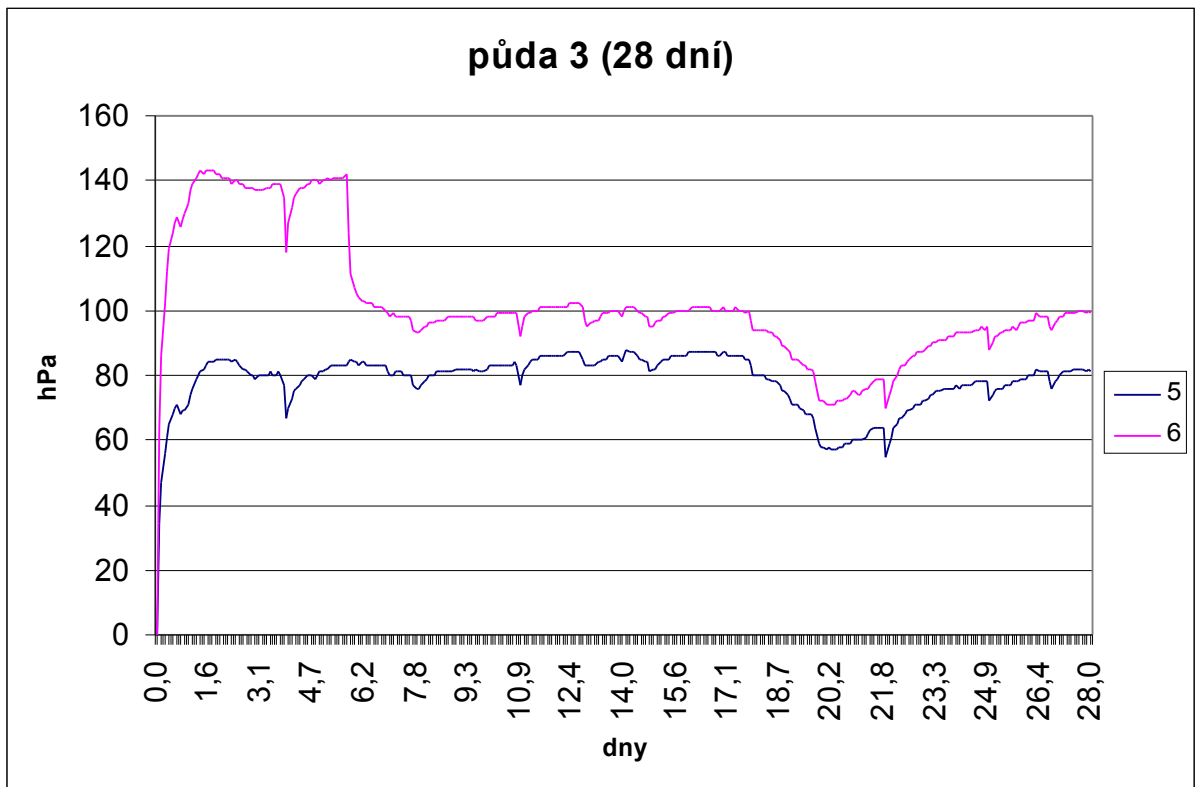
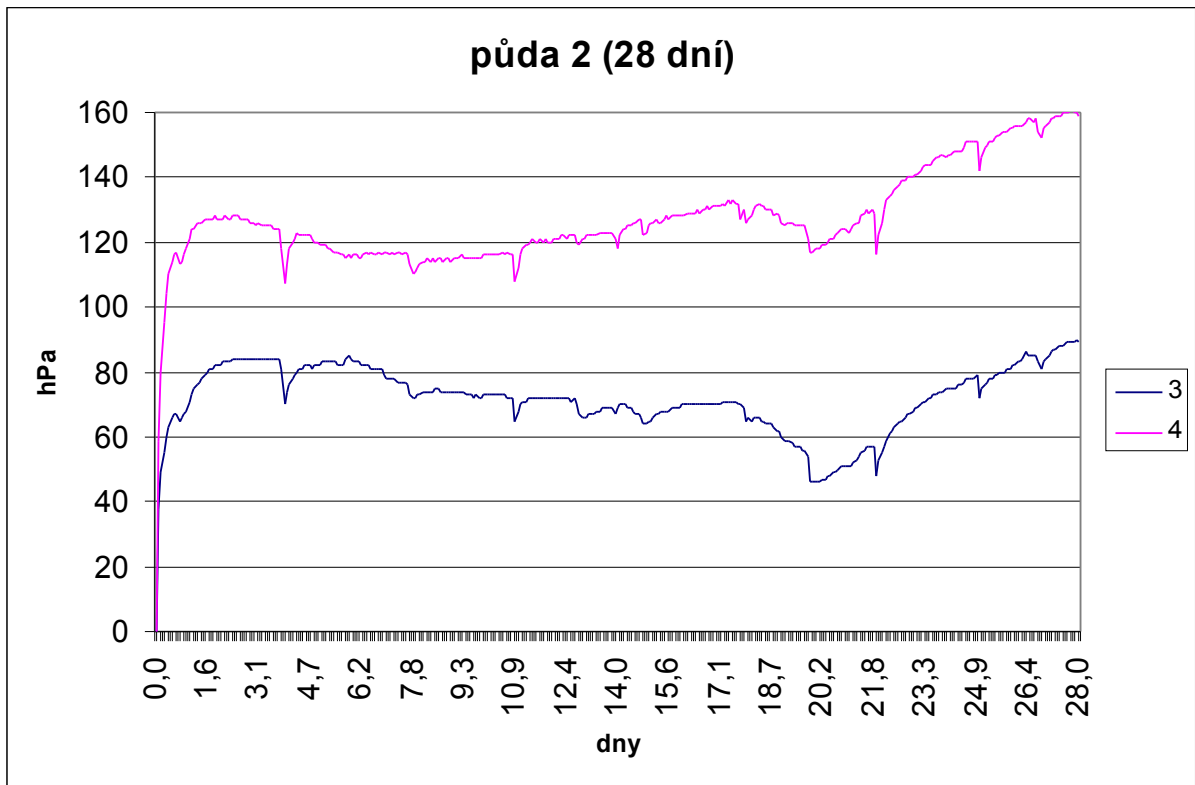


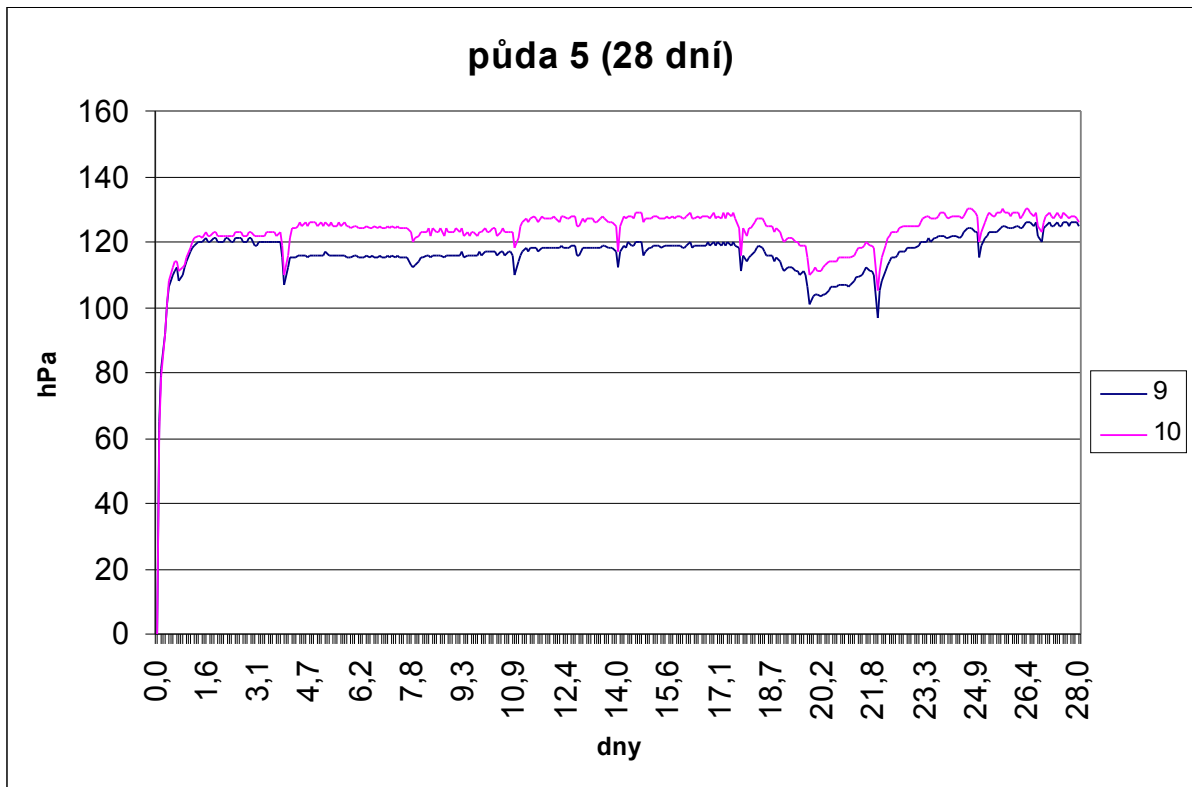
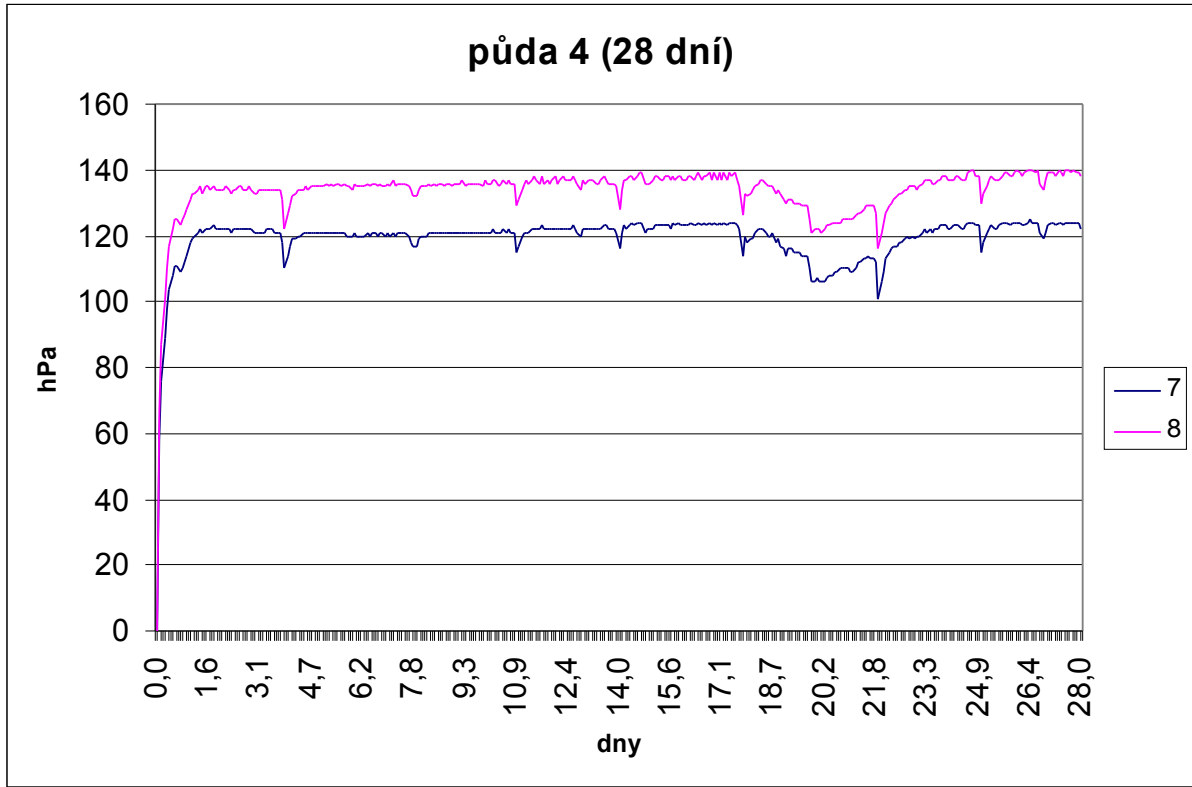


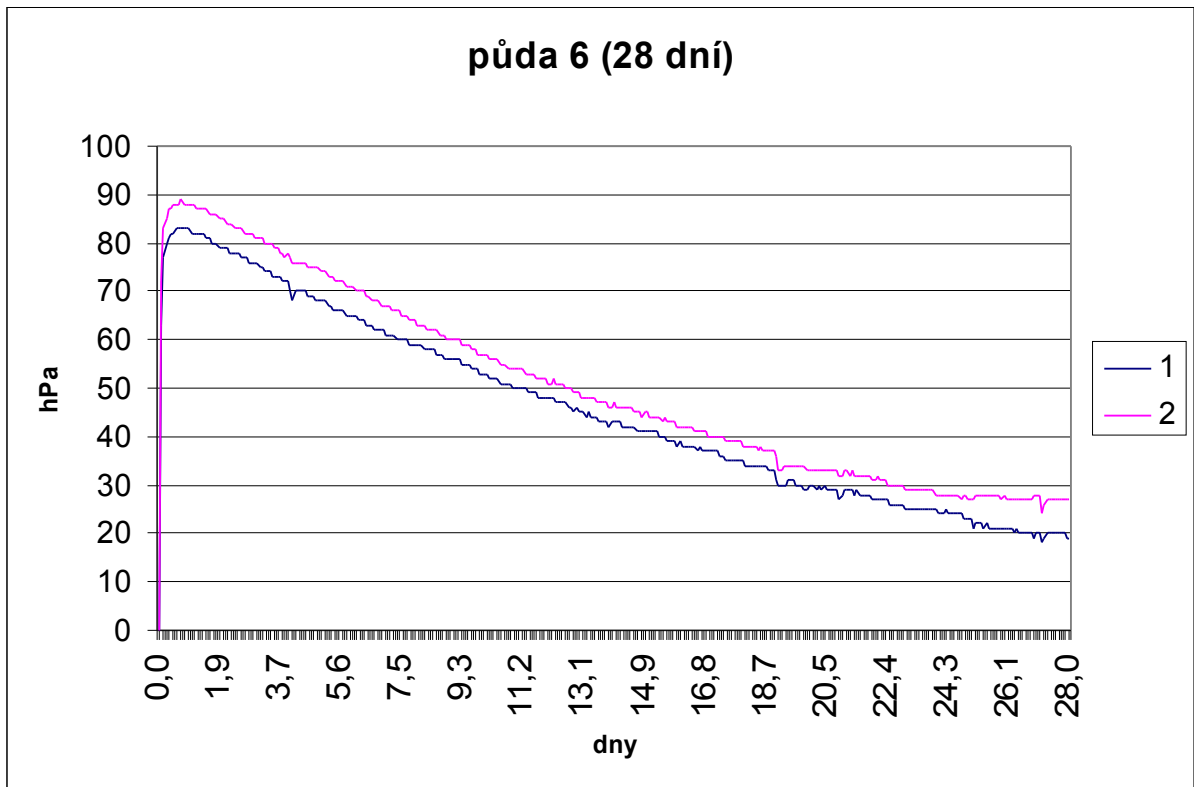
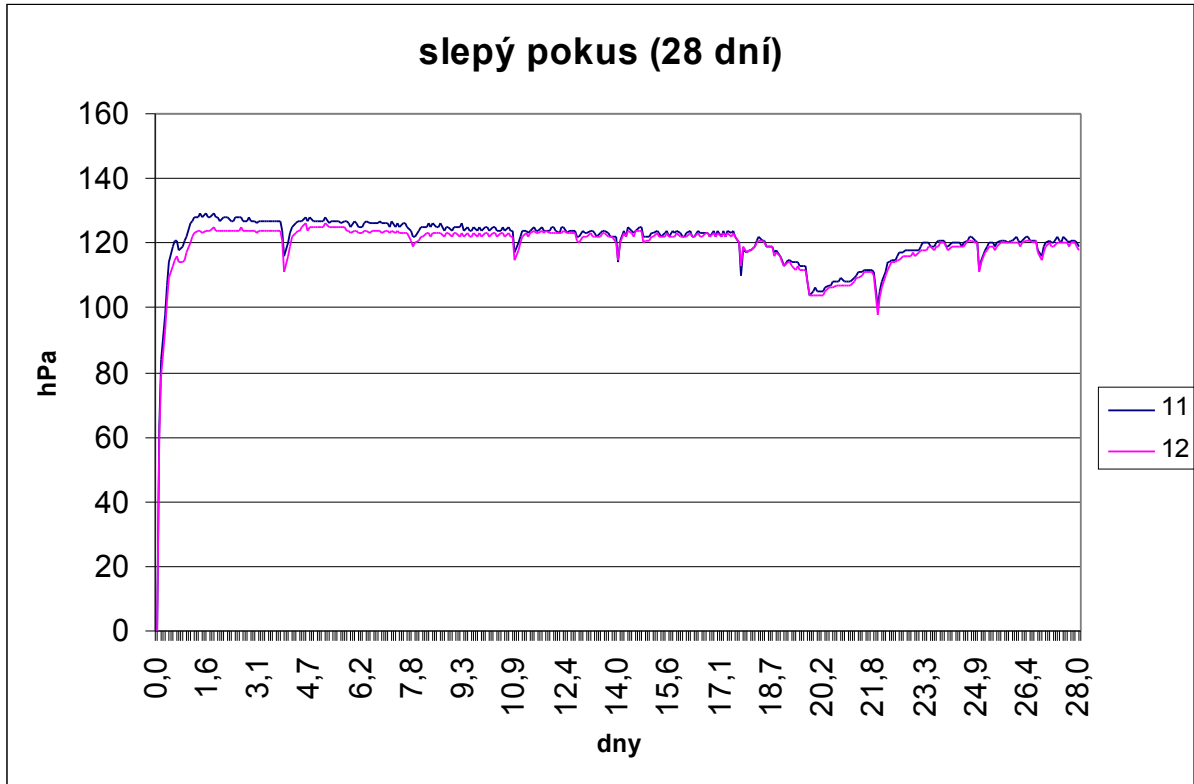
7.2 OXI TOP

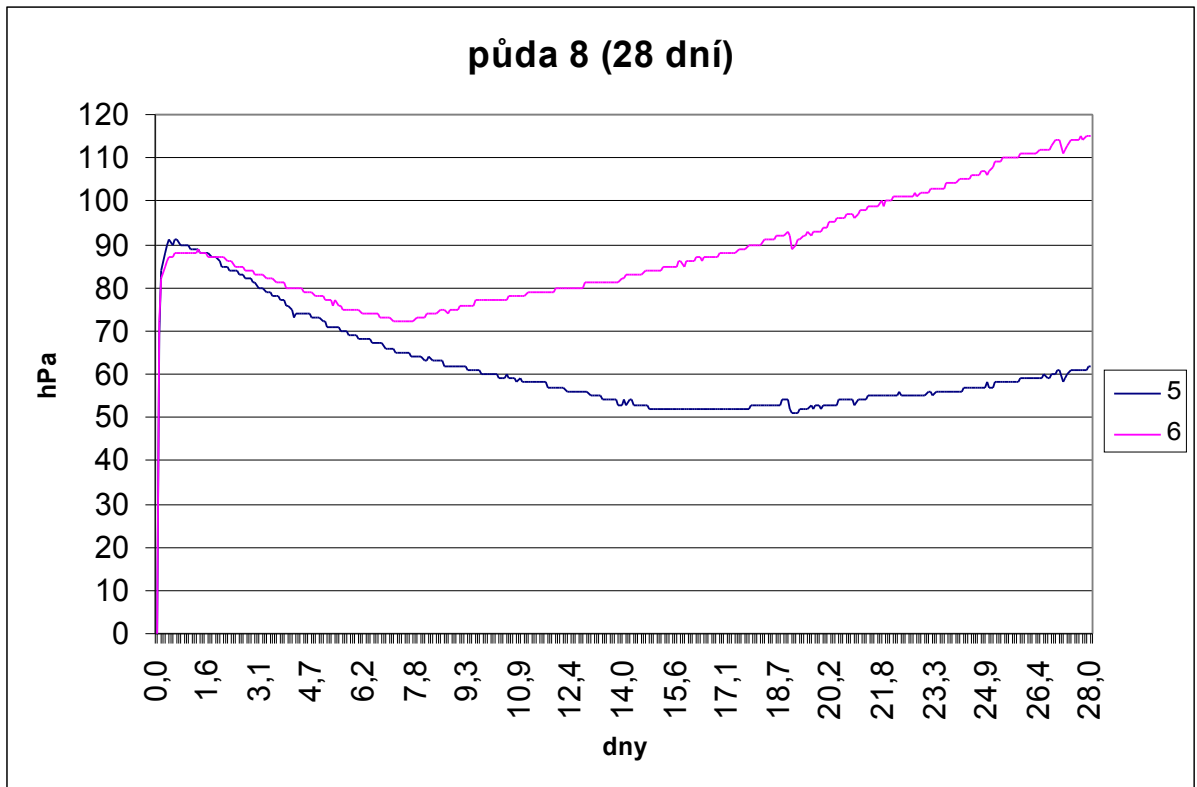
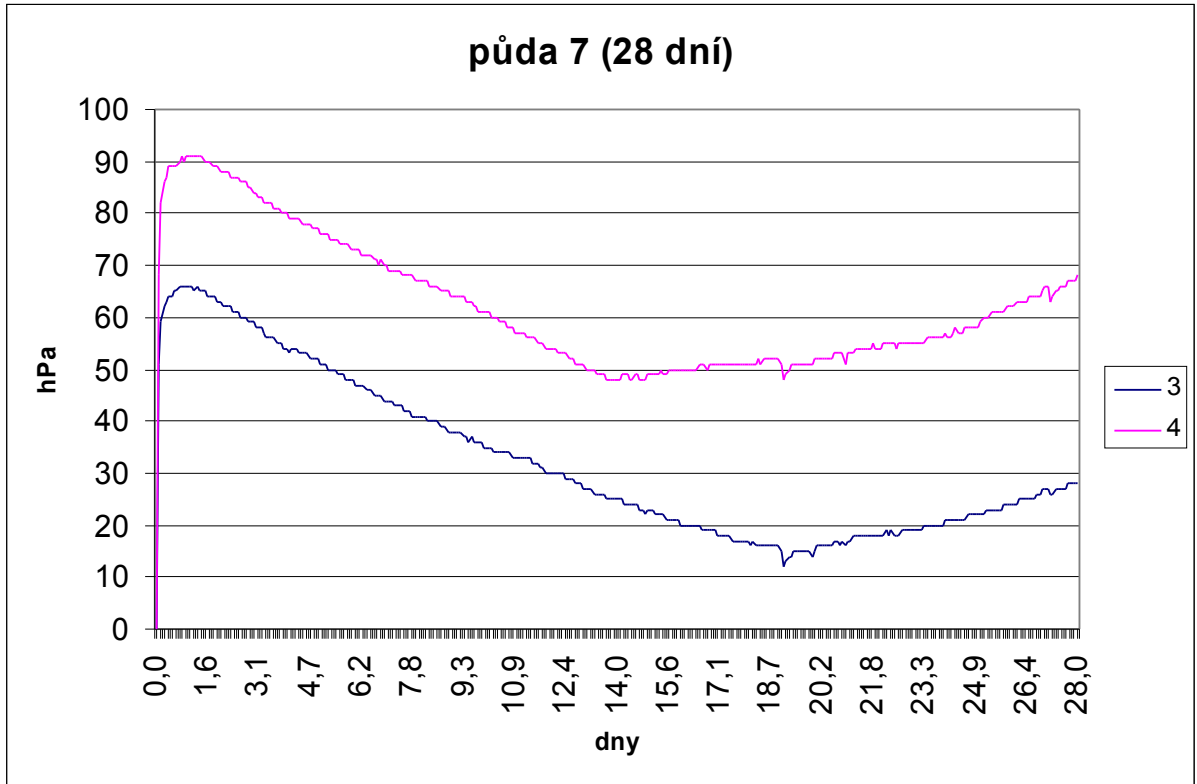
půda 1 (28 dní)

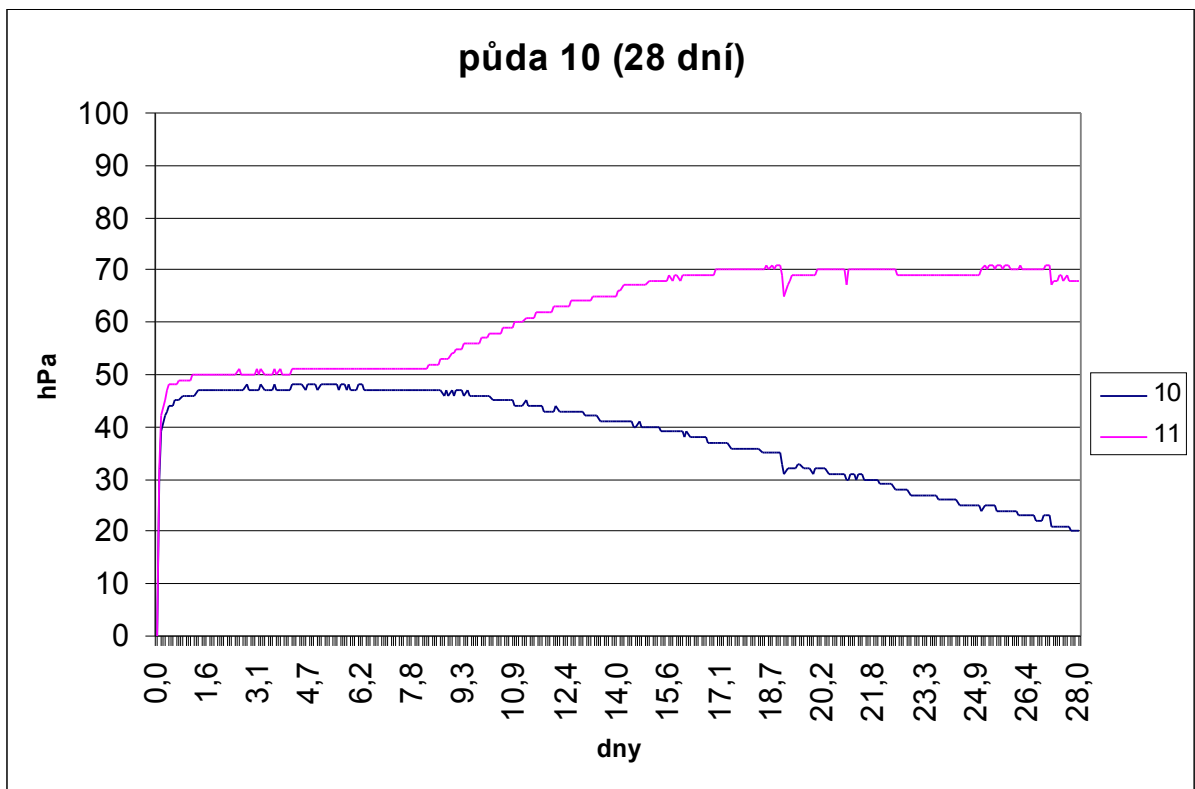
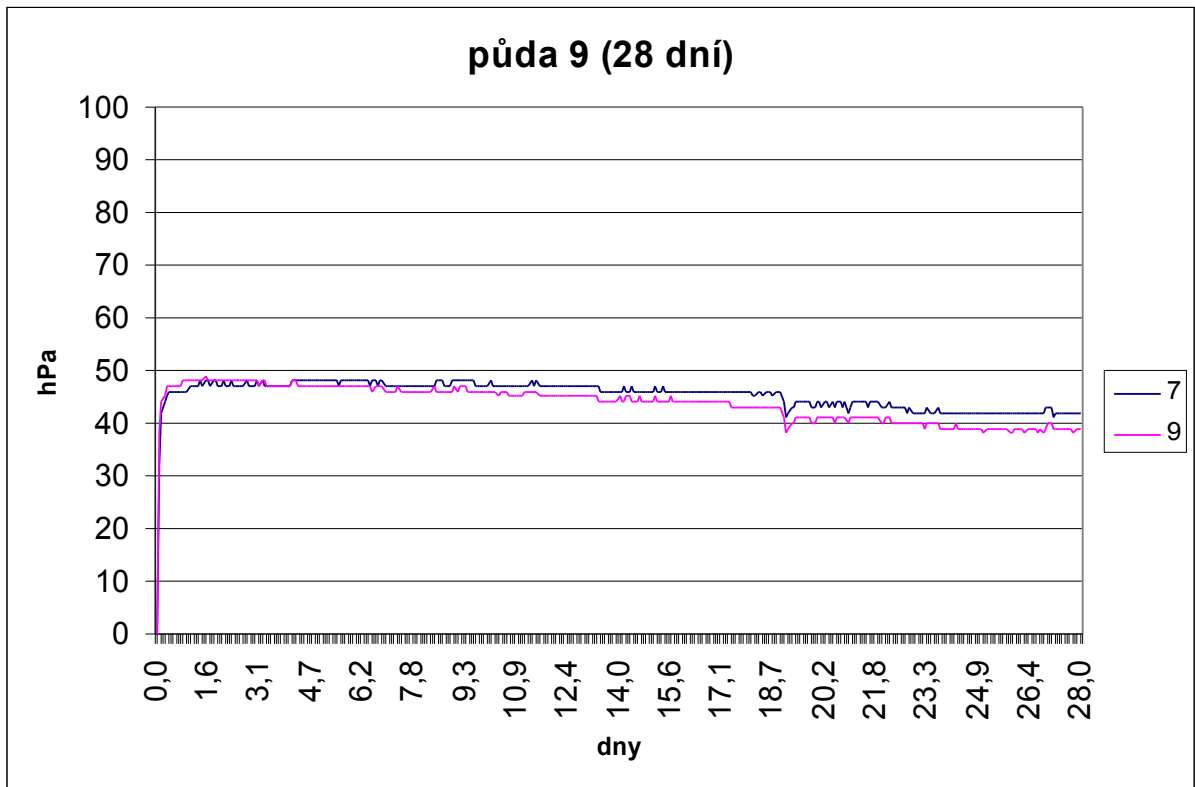




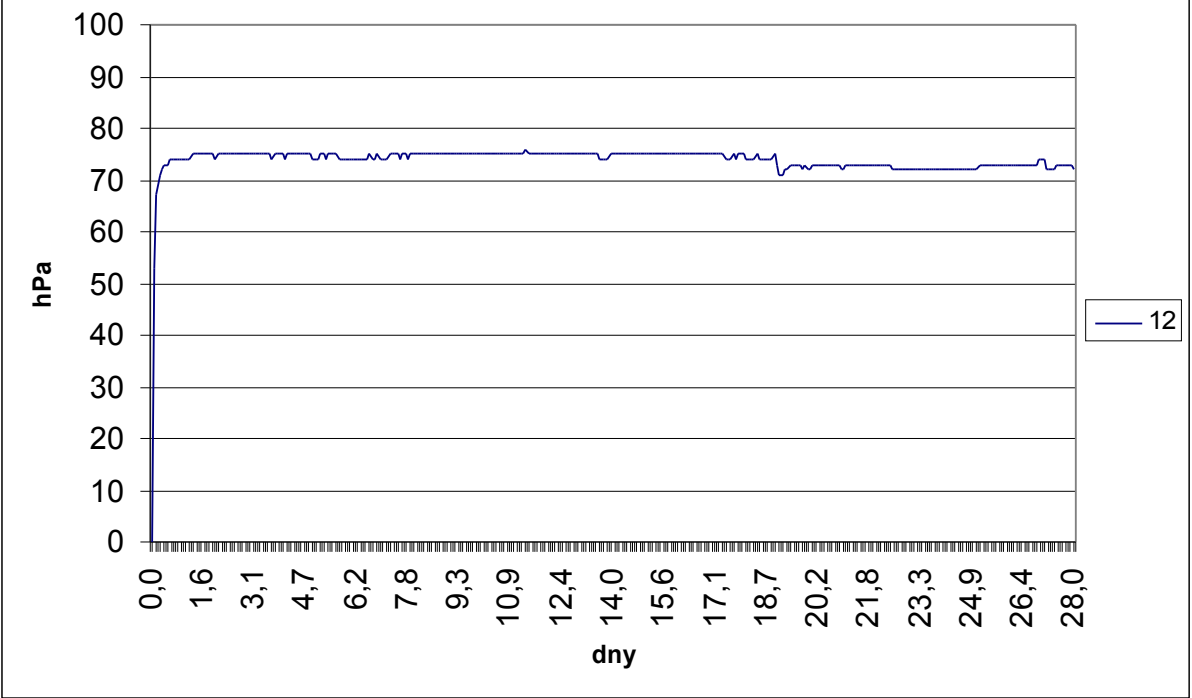






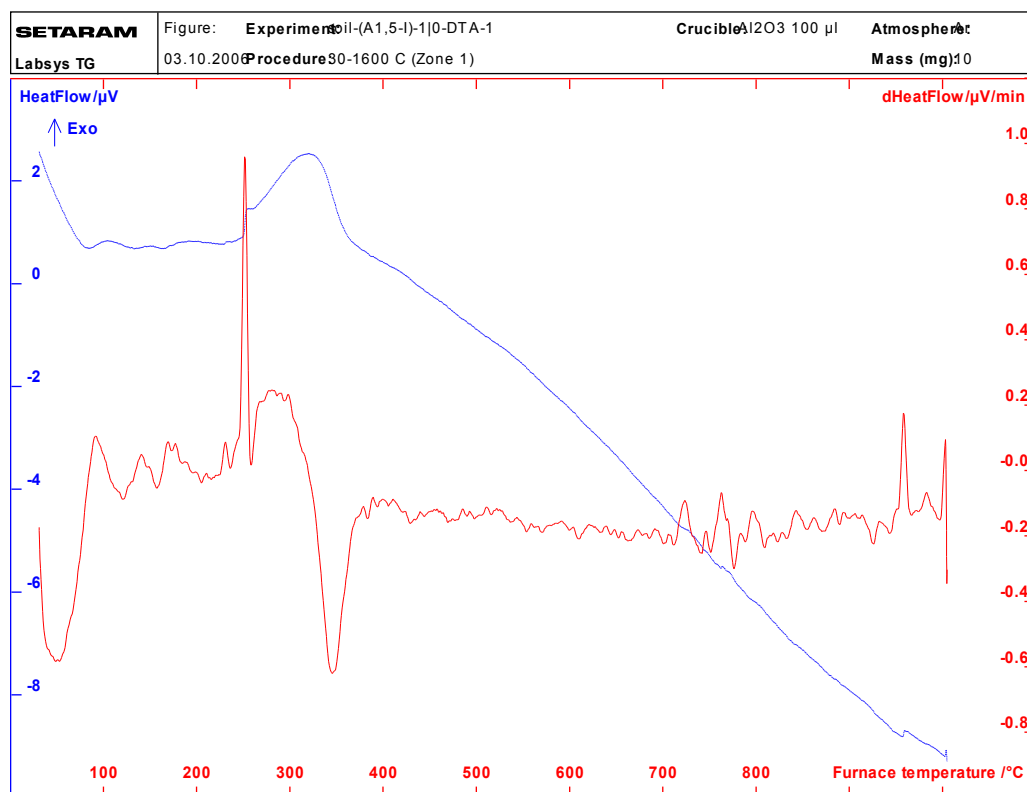


slepý pokus (28 dní)

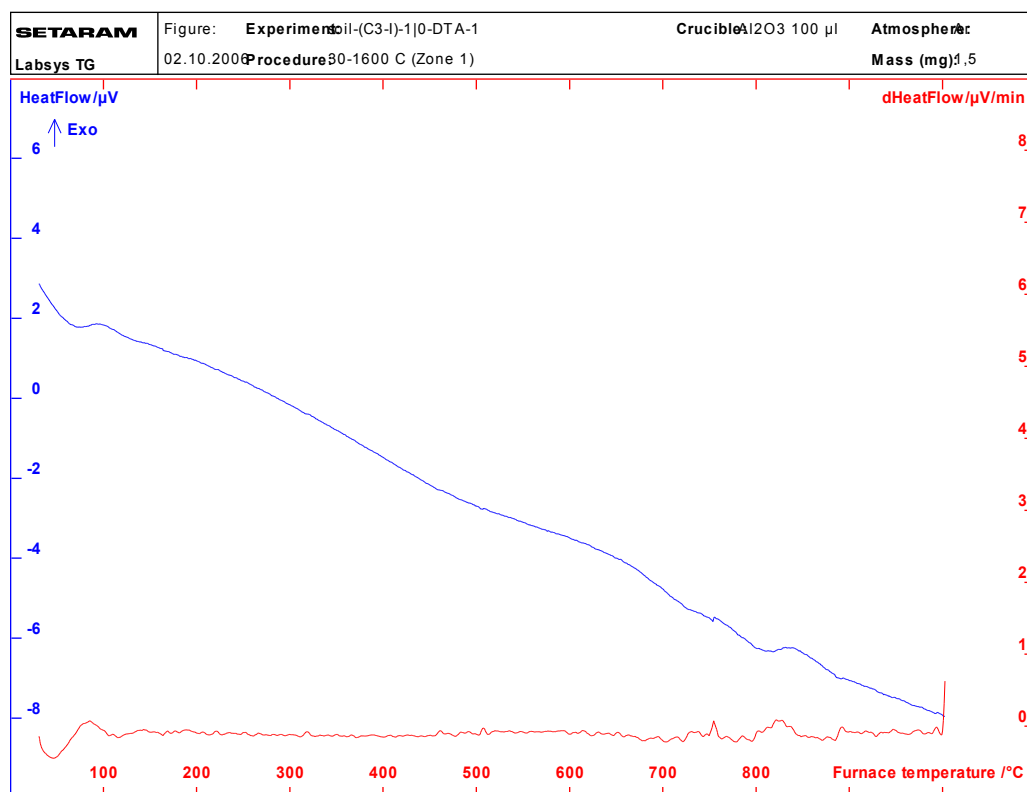


7.3 Vyhodnocení frakcí DTA – metoda sekvenční extrakce

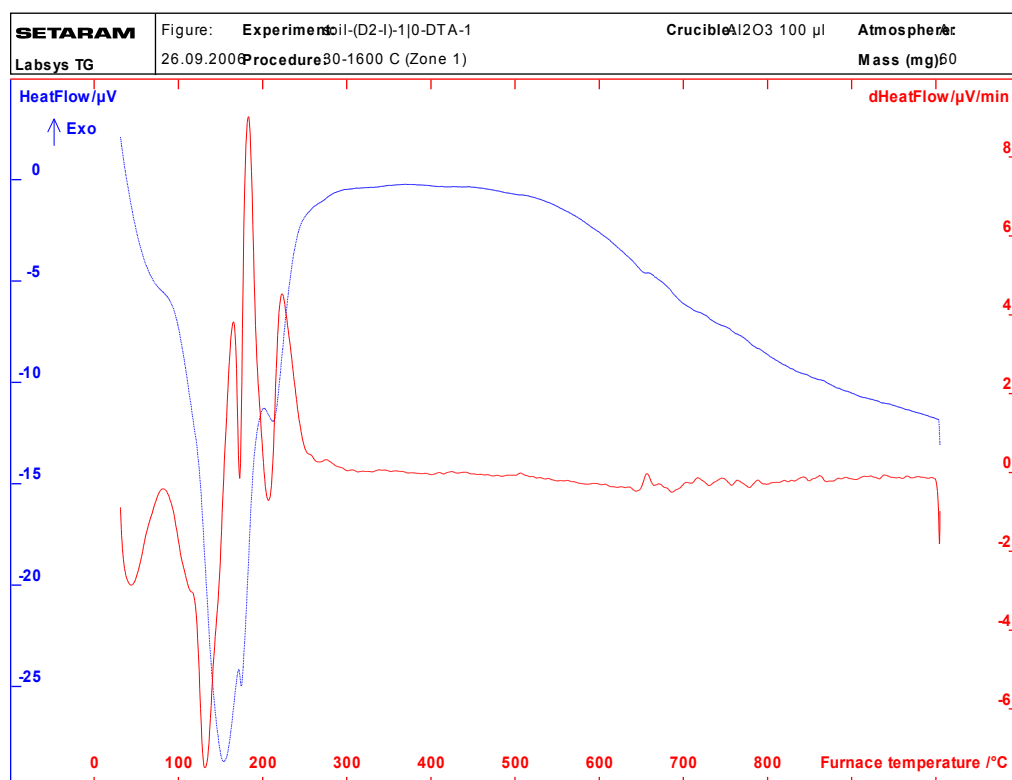
Frakce A



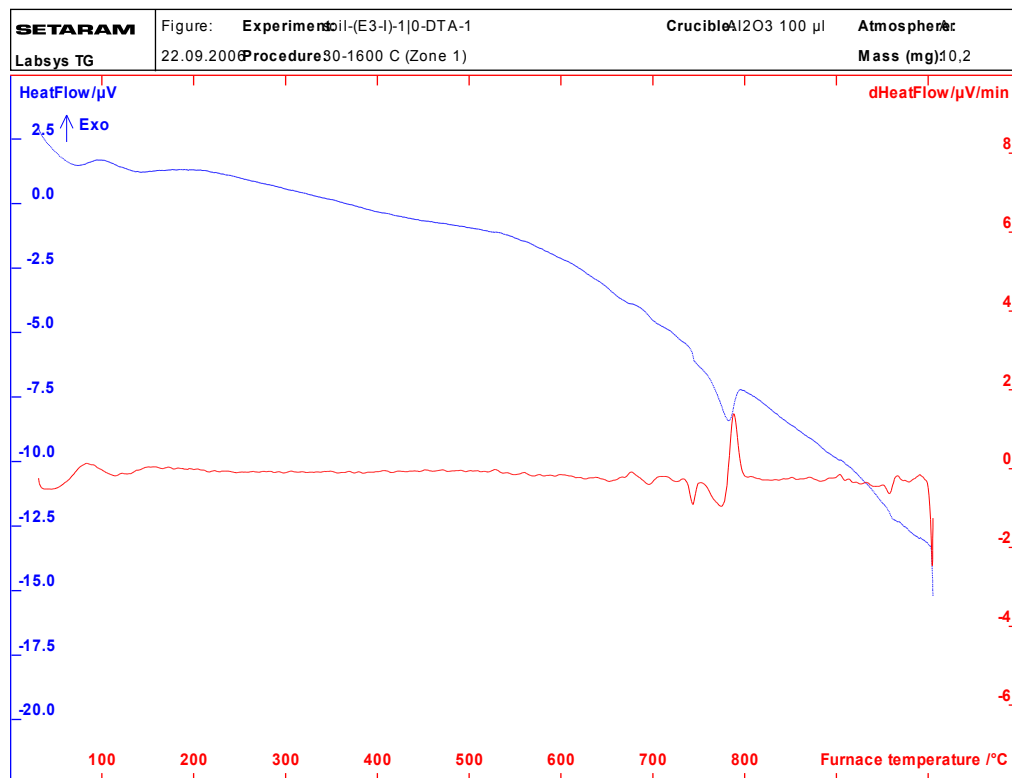
Frakce C



Frakce D



Frakce E



Pozn.: Frakce B nemohla být vyhodnocena pomocí DTA z důvodů příliš nízkého množství vzorku ke stanovení.