

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Simona GLIHA

**VPLIV VSEBNOSTI KARBONATOV V TLEH NA  
USPEŠNOST STANDARDIZIRANE BCR  
SEKVENČNE EKSTRAKCIJE**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij

Ljubljana, 2008

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Simona GLIHA

**VPLIV VSEBNOSTI KARBONATOV V TLEH NA USPEŠNOST  
STANDARDIZIRANE BCR SEKVENČNE EKSTRAKCIJE**

DIPLOMSKO DELO  
Univerzitetni študij

**THE EFFECT OF CARBONATE CONTENT IN SOIL SAMPLES ON  
RESULTS OF STANDARDIZED BCR SEQUENTIAL EXTRACTION**

GRADUATION THESIS  
University studies

Ljubljana, 2008

Diplomsko delo je zaključek Univerzitetnega študija agronomije. Opravljeno je bilo na Centru za pedologijo in varstvo okolja (CPVO) Oddelka za agronomijo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani, kjer so bile opravljene vse kemijske analize. Vzorci tal so bili vzeti iz laboratorija CPVO.

Študijska komisija Oddelka za agronomijo je za mentorico diplomskega dela imenovala doc. dr. Heleno Grčman.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik: prof. dr. Katja VADNAL  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Član: doc. dr. Helena GRČMAN  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Član: prof. dr. Domen LEŠTAN  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Datum zagovora:

Delo je rezultat lastnega raziskovalnega dela. Podpisana se strinjam z objavo diplomske naloge v polnem tekstu na spletni strani Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete. Izjavljam, da je naloga, ki sem jo oddala v elektronski obliki, identična tiskani verziji.

Simona Gliha

### KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Dn
DK	UDK 631.453:549.25:631.423 (043.2)
KG	težke kovine/svinec/frakcionacija/sekvenčne ekstrakcije/Ljubljana
KK	AGRIS P33/P35
AV	GLIHA, Simona
SA	GRČMAN, Helena (mentorica)
KZ	SI-1000 Ljubljana Jamnikarjeva 101
ZA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo
LI	2008
IN	VPLIV VSEBNOSTI KARBONAROV V TLEH NA USPEŠNOST STANDARDIZIRANE BCR SEKVENČNE EKSTRAKCIJE
TD	Diplomsko delo (univerzitetni študij)
OP	X, 36, [6] str., 9 pregl., 11 sl., 5 pril., 30 vir.
IJ	sl
JI	sl/en
AI	Ugotavljali smo vpliv karbonatov v talnih vzorcih na rezultate štiristopenjske standardizirane BCR in šeststopenjske Tessier-jeve sekvenčne metode. Izbrali smo 5 vzorcev urbanih tal iz Mestne občine Ljubljana (MOL) z različno vsebnostjo karbonatov (od 10,9 % do 34,5 %) in referenčni material BCR 701. Skupna količina Pb v vzorcih MOL je bila od 103 do 192 mg/kg, v BCR 701 pa 142 mg/kg. Merili smo koncentracijo Pb v vsaki frakciji, pH ekstrakcijske raztopine med ekstrakcijo in delež karbonatov v ostanku talnega vzorca po izvedeni posamezni ekstrakciji. Ugotovili smo, da se sekvenčni metodi razlikujeta v porazdelitvi Pb v posamezne frakcije. Največje razlike so bile pri izmeri karbonatno vezanega Pb, ki je bil po BCR metodi pod mejo detekcije, po Tessier-jevi metodi pa od 6,9 do 12,4 % glede na skupno količino Pb v vzorcu. Pomembne razlike smo ugotovili tudi pri določitvi Pb, vezanega na Fe in Mn okside ter organsko snov. Na določitev deleža Pb, vezanega na Fe in Mn okside verjetno vpliva večja količina karbonatov v vzorcu, ki dvignejo pH ekstrakcijske raztopine med ekstrakcijo: pri BCR metodi se je pH raztopine v II. frakciji dvignil z začetne 1,5 do maksimalno 4,7; pri Tessier-jevi metodi pa od začetne 2 do 5,7. Meritev karbonatov v ostanku vzorcev je potrdila, da ostane pri BCR metodi v vzorcu po I. frakciji do 62,5 % in v II. frakciji do 35,6 % od začetne količine karbonatov. Pri Tessier-jevi metodi pa ostane po I. frakciji do 98 %, po II. do 84,4 %, po III. do 67,8 % in po IV. do 63,5 % od začetne količine karbonatov. Karbonati se raztopijo šele v III. frakciji BCR oz. V. frakciji Tessier-jeve metode. Prisotnost karbonatov v vzorcu vpliva na manjšo določitev Pb v frakciji, vezani na Fe in Mn okside, in posledično na večjo določitev Pb v naslednjih frakcijah.

## KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Dn  
DC UDC 631.453:549.25:631.423 (043.2)  
CX heavy metals/lead/fractionation/sequential extraction/Ljubljana  
CC AGRIS P33/P35  
AU GLIHA, Simona  
AA GRČMAN, Helena (supervisor)  
PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101  
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Agronomy  
PY 2008  
TI THE EFFECT OF CARBONATE CONTENT IN SOIL SAMPLES ON RESULTS OF STANDARDIZED BCR SEQUENTIAL EXTRACTION  
DT Graduation Thesis (University studies)  
NO X, 36, [6] p., 9 tab., 11 fig., 5 ann., 30 ref.  
LA sl  
AL sl/en  
AB The aim of this research was to establish the effect of soil carbonate content on the results of three step standardized BCR sequential extraction method and six step Tessier method. We selected 5 urban soil samples from Ljubljana municipality (MOL) with different carbonate content (10.9 % do 34 %) and BCR 701 reference material. The total amount of Pb in MOL soil samples was in the range of 103 to 192 mg/kg and in BCR 701 - 142 mg/kg. We measured Pb concentration in soil fractions, pH of extraction solutions during extraction procedure and the carbonate content in soil samples residues after separate extraction. Tested sequential methods differ in fractionation of Pb. According to our results, the most evident difference was in the amount of Pb bound to carbonates: With BCR method we did not measure Pb in this fraction on contrary according to Tessier method from 6.9 do 12.4 % of total Pb was found bound to carbonates. Important differences were found also in Pb fraction bound to Fe and Mn oxides (II. fraction BCR and IV. fraction Tessier) and fraction bound to organic matter (III. fraction of BCR and V. fraction of Tessier method). Results indicated that carbonates in soil samples could influence the pH of extraction solution during extraction and consequently determination of Pb fraction bound to Fe and Mn oxides: pH extraction solution of II. fraction BCR method rised from initial 1.5 up to 4.7; pH extraction solution of IV. fraction Tessier method rised from initial 2.0 up to 5.7. We measured considerable amount of carbonates in soil samples residues: up to 62.5 % and 35.6 % of initial carbonate content after I. and II. fraction of BCR method respectively and up to 98 %, 84.4 %, 67.8 % and 63.5 % of initial carbonate content after I. II. III. and IV. fraction of Tessier method respectively. Carbonates completely dissolved after III. fraction of BCR and after V. fraction of Tessier method. Due to high content of carbonates in soil samples the determination of Pb fraction bound to Fe and Mn oxides was less effective and as a consequence Pb in following fractions were probably overestimated.

## KAZALO VSEBINE

	Ključna dokumentacijska informacija (KDI)	III
	Key words documentation (KWD)	IV
	Kazalo vsebine	V
	Kazalo preglednic	VII
	Kazalo slik	VIII
	Kazalo prilog	IX
	Okrajšave in simboli	X
<b>1</b>	<b>UVOD</b>	<b>1</b>
1.1	POVOD ZA IZDELAVO DIPLOMSKEGA DELA	1
1.2	NAMEN DIPLOMSKEGA DELA	2
1.3	DELOVNA HIPOTEZA	2
<b>2</b>	<b>PREGLED OBJAV</b>	<b>3</b>
2.1	TEŽKE KOVINE	3
<b>2.1.1</b>	<b>Svinec</b>	<b>3</b>
2.2	DOSTOPNOST IN MOBILNOST TEŽKIH KOVIN V TLEH	4
2.3	FRAKCIONACIJA TEŽKIH KOVIN V TLEH	7
2.4	METODA SEKVENČNIH EKSTRAKCIJ	7
<b>2.4.1</b>	<b>Šeststopenjska Tessier-jeva sekvenčna ekstrakcija težkih kovin</b>	<b>9</b>
<b>2.4.2</b>	<b>Štiristopenjska BCR sekvenčna ekstrakcija</b>	<b>10</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAL IN METODE</b>	<b>12</b>
3.1	IZBOR VZORCEV	12
3.2	ANALITSKE METODE	13
<b>3.2.1</b>	<b>Skupna vsebnost težkih kovin v tleh</b>	<b>13</b>
<b>3.2.2</b>	<b>Frakcionacija težkih kovin v tleh - metoda sekvenčnih ekstraktij</b>	<b>13</b>
<b>3.2.3</b>	<b>pH ekstrakcijske raztopine</b>	<b>17</b>
<b>3.2.4</b>	<b>Delež karbonatov v tleh</b>	<b>17</b>
3.3	STATISTIČNA ANALIZA	17
<b>4</b>	<b>REZULTATI</b>	<b>18</b>
4.1	PEDOLOŠKE LASTNOSTI	18
4.2	FRAKCIONACIJA SVINCA V TLEH PO ŠTIRISTOPENJSKI BCR SEKVENČNI EKSTRAKCIJI	18
4.3	FRAKCIONACIJA SVINCA V TLEH PO ŠESTSTOPENJSKI TESSIER- JEVI SEKVENČNI EKSTRAKCIJI	20
4.4	USPEŠNOST SEKVENČNIH EKSTRAKCIJ	21
4.5	SPREMEMBE pH VREDNOSTI V VZORCIH MED POTEKOM SEKVENČNIH EKSTRAKCIJ	22
4.6	VSEBNOST KARBONATOV V VZORCIH MED POTEKOM SEKVENČNIH EKSTRAKCIJ	25
<b>5</b>	<b>RAZPRAVA</b>	<b>27</b>
5.1	PEDOLOŠKE LASTNOSTI, SKUPNA VSEBNOST Pb IN FRAKCIONACIJA Pb	27
5.2	PRIMERJAVA BCR IN TESSIER-JEVE SEKVENČNE EKSTRAKCIJE	28
5.3	USPEŠNOST EKSTRAKCIJ	30

5.4	SKLEPI	31
<b>6</b>	<b>POVZETEK</b>	<b>32</b>
<b>7</b>	<b>VIRI</b>	<b>34</b>
	<b>ZAHVALA</b>	
	<b>PRILOGA</b>	

## KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1	Primerjava originalne in modificirane BCR sekvenčne ekstrakcije (Rauret in sod., 1999; Mossop in Davidson, 2003; Davidson in sod., 2004; Bacon in Davidson, 2008).	11
Preglednica 2	Pregled reagentov v postopku sekvenčne ekstrakcije, modificirana metoda (Tessier in sod., 1979).	14
Preglednica 3	Pregled reagentov v postopku modificirane štiristopenjske BCR sekvenčne ekstrakcije (Rauret in sod., 1998; Mossop in Davidson, 2003).	15
Preglednica 4	Vrednosti osnovnih pedoloških lastnosti.	18
Preglednica 5	Primerjava med deklariranimi in izmerjenimi vrednostmi za referenčni material (BCR 701, Community Bureau of Reference) v postopku štiristopenjske BCR sekvenčne ekstrakcije.	21
Preglednica 6	Izkoristki frakcionacije svinca (%) 5 talnih vzorcev in referenčnega materiala v štiristopenjski BCR in šestopenjski Tessier-jevi sekvenčni ekstrakciji.	22
Preglednica 7	Delež karbonatov v ostanku vzorca po izvedeni posamezni ekstrakciji BCR sekvenčne sheme preračunano glede na začetno vsebnost karbonatov v vzorcu.	25
Preglednica 8	Delež karbonatov v ostanku vzorca po izvedeni posamezni ekstrakciji Tessier-jeve sekvenčne sheme preračunano glede na začetno vsebnost karbonatov v vzorcu.	26
Preglednica 9	Vsebnost Pb (mg/kg) in delež svinca v posameznih frakcijah (%) od skupne količine Pb v vzorcu (%) po postopku šeststopenjske Tessier-jeve in štiristopenjske BCR sekvenčne ekstrakcije.	29



## KAZALO SLIK

Slika 1	Vrtec MOL 10789; Vrtec Jarše-Rožle, Pokopališka 30	12
Slika 2	Križišče MOL 11027; Šmartinska in Savska cesta	12
Slika 3	Vrtec MOL 10282; Vrtec Mladi rod, Peričeva 6	12
Slika 4	Vrtec MOL 14275; Vrtec Center, Strossmayerjeva 3	12
Slika 5	Križišče MOL 14707; Trg mladinskih delovnih brigad	13
Slika 6	Koncentracija Pb (mg/kg) v posamezni frakciji tal (I-IV) za 5 talnih vzorcev in referenčni material BCR 701.	19
Slika 7	Koncentracija Pb (mg/kg) v posamezni frakciji tal (I-VI) za 5 talnih vzorcev in referenčni material BCR 701. Uporabljena šeststopenjska Tessier-jeva sekvenčna ekstrakcija: I-Pb topen; II-Pb izmenljivo vezan; III-Pb vezan na karbonate; IV-Pb vezan na Fe in Mn okside; V-Pb vezan na organsko snov; VI-Pb v ostanku. Podane so povprečne vrednosti treh ponovitev $\pm$ standardna deviacija.	20
Slika 8	pH v posamezni frakciji tal (I-IV) za 5 talnih vzorcev in referenčni material BCR 701. Uporabljena štiristopenjska BCR sekvenčna ekstrakcija: I-topen, izmenljivo vezan in vezan na karbonate; II-vezan na Fe in Mn okside; III-vezan na organsko snov. Podane so povprečne vrednosti treh ponovitev $\pm$ standardna deviacija.	23
Slika 9	pH v posamezni frakciji tal (I-VI) za 5 talnih vzorcev in referenčni material BCR 701. Uporabljena šeststopenjska Tessier-jeva sekvenčna ekstrakcija: I-topen; II-izmenljivo vezan; III-vezan na karbonate; IV - vezan na Fe in Mn okside; V-vezan na organsko snov. Za vrednosti pH ekstrakcijske raztopine po ekstrakciji so podane povprečne vrednosti treh ponovitev $\pm$ standardna deviacija.	24
Slika 10	Karbonati (%) v posamezni frakciji tal (I-IV) za 2 talna vzorca. Uporabljena štiristopenjska BCR sekvenčna ekstrakcija: začetna vsebnost, I-topen, izmenljivo vezan in vezan na karbonate; II-vezan na Fe in Mn okside; III-vezan na organsko snov; IV-ostanek. Podane so povprečne vrednosti treh ponovitev $\pm$ standardna deviacija.	25
Slika 11	Karbonati (%) v posamezni frakciji tal (I-VI) za 2 talna vzorca. Uporabljena šeststopenjska Tessier-jeva sekvenčna ekstrakcija: začetna vsebnost; I-topen; II-izmenljivo vezan; III-vezan na karbonate; IV-vezan na Fe in Mn okside; V-vezan na organsko snov; VI-ostanek. Podane so povprečne vrednosti treh ponovitev $\pm$ standardna deviacija.	26

## KAZALO PRILOG

- PRILOGA A:** Koncentracije Pb (mg/kg), v posamezni talni frakciji modificirane štiristopenjske BCR sekvenčne ekstrakcije (I-IV): I-Pb topen, izmenljivo vezan, vezan na karbonate; II-Pb vezan na Fe in Mn okside; III-Pb vezan na organsko snov; IV-Pb v ostanku. Podane so posamezne meritve ter povprečje in standardna deviacija treh ponovitev, pri BCR 701 v štirih ponovitvah.
- PRILOGA B:** Koncentracije Pb (mg/kg), v posamezni talni frakciji sekvenčne ekstrakcije, modificirana metoda (Tessier in sod., 1979) (I-VI): I-Pb topen; II-Pb izmenljivo vezan; III-Pb vezan na karbonate; IV-Pb vezan na Fe in Mn okside; V-Pb vezan na organsko snov; VI-Pb v ostanku. Podane so posamezne meritve ter povprečje in standardna deviacija treh ponovitev, pri BCR 701 v štirih ponovitvah.
- PRILOGA C:** Karbonati (%), v posamezni talni frakciji modificirane štiristopenjske BCR sekvenčne ekstrakcije (I-IV): I-topen, izmenljivo vezan, vezan na karbonate; II-vezan na Fe in Mn okside; III-vezan na organsko snov; IV-ostanek. Podane so posamezne meritve ter povprečje in standardna deviacija treh ponovitev.
- Karbonati (%), v posamezni talni frakciji sekvenčne ekstrakcije, modificirana metoda (Tessier in sod., 1979): I-topen; II-izmenljivo vezan; III-vezan na karbonate; IV-vezan na Fe in Mn okside; V-vezan na organsko snov; IV-ostanek. Podane so posamezne meritve ter povprečje in standardna deviacija treh ponovitev.
- PRILOGA D:** pH, v posamezni talni frakciji sekvenčne ekstrakcije, modificirana metoda (Tessier in sod., 1979) : I-topen; II-izmenljivo vezan; III-vezan na karbonate; IV-vezan na Fe in Mn okside; V-vezan na organsko snov. Podane so posamezne meritve ter povprečje in standardna deviacija treh ponovitev.
- PRILOGA E:** pH, v posamezni talni frakciji modificirane štiristopenjske BCR sekvenčne ekstrakcije: I-topen, izmenljivo vezan, vezan na karbonate; II-vezan na Fe in Mn okside; III-vezan na organsko snov. Podane so posamezne meritve ter povprečje in standardna deviacija treh ponovitev.

## OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

CPVO	Center za pedologijo in varstvo okolja
URBSOIL	Mednarodni projekt 5. okvirnega evropskega programa, ki ga financira evropska komisija z naslovom: »Urban Soils as a Source and Sink for Pollution: Towards a Common European Methodology for the Evaluation of their Environmental Quality as a Tool for Sustainable Resource Management«
MOL	Mestna občina Ljubljana
BCR	Community Bureau of Reference
PP	polipropilenske
PE	polietilenske
TK	težke kovine
AAS	atomska absorpcijska spektrometrija
Eh	redoks potencial
pH	negativni logaritem koncentracije vodikovih [H <sup>+</sup> ] ionov v neki raztopini
Fe	železo
Mn	mangan
Pb	svinec
zlatotopka	zmes koncentrirane HCl in koncentrirane HNO <sub>3</sub> v razmerju 3:1

## 1 UVOD

Povzročitelji onesnaženja, kot so industrija, urbanizacija in moderno kmetijstvo s svojimi produkti prispevajo k povečani koncentraciji težkih kovin v tleh. Glavne vire takega onesnaženja v veliki meri predstavljajo izgorevanje fosilnih goriv, taljenje rud, uporaba mineralnih gnojil in fitofarmaceutskih sredstev, odpadna blata in gošče komunalnih čistilnih naprav, promet, emisije kemijske in druge težke industrije (Leštan in sod., 2003). V Sloveniji ureja omejitve v zvezi z onesnaženjem tal Uredba o mejnih, opozorilnih in kritičnih emisijskih vrednostih nevarnih snovi v tleh (Uredba ..., 1996).

Z izrazom težke kovine označujemo tiste kovine, katerih gostota je večja od  $5 \text{ g/cm}^3$ . Pogosto jih imenujemo tudi elementi v sledovih, ker predstavljajo manj kot 1 % zemeljske skorje. Kovine v sledovih so za organizme v večjih koncentracijah strupene, v manjših količinah pa kot mikrohranila organizmom nujno potrebne (esencialne) (Leštan, 2002). Tla, onesnažena s težkimi kovinami, predstavljajo velik problem, saj lahko težke kovine prehajajo v prehranjevalno verigo in tako postanejo nevarne za zdravje ljudi in živali. Kemijska oblika, v kateri se težke kovine nahajajo v tleh, je bistvena, saj določa biodosegljivost in mobilnost težkih kovin v tleh.

Težke kovine se v tleh nahajajo v talni raztopini, vezane izmenljivo na mineralni del tal, na železove in manganove okside, na organsko snov in na karbonate (Wassay in sod., 1998). Poznavanje celokupne vsebnosti težkih kovin v tleh je pomemben kriterij, a ne zadosten za oceno dostopnosti in mobilnosti težkih kovin v tleh. Več informacij dobimo z ugotavljanjem frakcionacije težkih kovin v tleh, za kar se uporabljajo sekvenčne ekstrakcije, kjer s kemičnimi reagenti spremenimo razmere v tleh in tako omogočimo ekstrakcijo težkih kovin iz različnih talnih frakcij.

V literaturi najdemo veliko število različnih protokolov sekvenčnih ekstrakcij, ki največkrat temeljijo na metodi, ki jo je razvil Tessier s sodelavci (1979). V zadnjem času pa se vse bolj uveljavlja modificirana štiristopenjska BCR sekvenčna ekstrakcija, ki je krajša, enostavnejša in ima na razpolago komercialni referenčni material, kar omogoča sledenje točnosti izvajanja postopkov. Razvita je bila z namenom poenotenja metod, kar omogoča tudi večjo primerljivost med različnimi študijami.

### 1.1 POVOD ZA IZDELAVO DIPLOMSKEGA DELA

Povod za raziskovalno nalogo so bili rezultati predhodnih raziskav, ki so nakazovali, da BCR metoda ni primerna za tla, bogata s karbonati (Grčman in sod., 2005a). Na osnovi primerjave rezultatov za vzorce, ki imajo velik delež karbonatov, in vzorce z manjšim deležem karbonatov, smo ugotovili, da večje količine karbonatov lahko vplivajo na uspešnost ekstrakiranja kovin v drugi frakciji, zaradi česar je vsebnost kovin v tej frakciji lahko podcenjena, posledično pa se poveča delež v frakcijah, ki sledijo. Predvidevali smo, da lahko visok delež karbonatov v tleh dvigne pH ekstrakcijske raztopine v drugi fazi ekstrakiranja, s čimer zmanjša njeno moč.

## 1.2 NAMEN DIPLOMSKEGA DELA

Namen diplomske naloge je bil ugotoviti frakcionacijo Pb z uporabo modificirane štiristopenjske BCR in šeststopenjske Tessier-jeve sekvenčne ekstrakcije v petih talnih vzorcih z različno vsebnostjo karbonatov in enem referenčnem materialu BCR 701. Vpliv karbonatov smo ugotavljali z meritvijo pH ekstrakcijske raztopine med samo ekstrakcijo ter ostanek karbonatov v vzorcu po vsaki ekstrakciji. Talni vzorci so bili izbrani izmed 130 vzorcev, ki so bili povzorčeni in analizirani v okviru projekta URBSOIL (Urban Soils as a Source and Sink for Pollution: Towards a Common European Methodology for the Evaluation of their Environmental Quality as a Tool for Sustainable Resource Management) v Mestni občini Ljubljana, v katerem je sodeloval Center za pedologijo in varstvo okolja (CPVO) med leti 2002 in 2004.

## 1.3 DELOVNA HIPOTEZA

- Predvidevamo, da se BCR in Tessier-jeva metoda razlikujeta v rezultatu frakcionacije Pb.
- Predvidevamo, da se pri štiristopenjski BCR sekvenčni shemi karbonati v tleh ne raztopijo v celoti v prvi frakciji, ki naj bi zajela tudi karbonatno vezane kovine, zaradi česar v drugi frakciji dvignejo pH ekstrakcijske raztopine in zmanjšajo njen učinek. Posledično se poveča delež Pb v naslednjih frakcijah.
- Predvidevamo, da BCR sekvenčna ekstrakcija ni primerna za tla, bogata s karbonati.

## 2 PREGLED OBJAV

### 2.1 TEŽKE KOVINE

Težke kovine so tiste kovine, katerih specifična gostota je večja od  $5 \text{ g/cm}^3$  oziroma atomsko število nad 20 (Barceló in Poschenrieder, 1990). V okolju se pojavljajo v zelo nizkih koncentracijah in predstavljajo manj kot 1 % zemeljske skorje, zato jih pogosto imenujemo tudi elementi v sledovih.

Težke kovine so lahko mikrohranila, torej v majhnih količinah nujno potrebna (esencialna) ali pa nimajo poznane biološke funkcije oz. so za organizem toksične. Tudi esencialne težke kovine so lahko toksične, če se nahajajo v velikih koncentracijah.

Težke kovine so v tleh prisotne naravno in kot posledica človekove dejavnosti. Naravna vsebnost težkih kovin je odvisna predvsem od matične podlage, biokemičnih procesov in procesov preperevanja. Človek pa vpliva na vsebnost težkih kovin v tleh z rudarjenjem in taljenjem rud, industrijo, atmosferskimi depoziti, kmetijstvom in odlaganjem odpadkov (Ross, 1994, cit. po Leštan, 2002).

Težke kovine, ki dospejo v tla, so stabilni in obstojni onesnaževalci okolja. V pedosferi ostanejo prisotne mnogo let, tudi če odstranimo vir onesnaženja (Chen in sod., 1997; Pichtel in sod., 1997). Čas, v katerem se koncentracija težkih kovin v tleh zmanjša za polovico, je od nekaj deset do več tisoč let, odvisno od posamezne težke kovine, njene geokemične oblike, vrste tal, vsebnosti organske snovi v tleh, klimatskih razmer (predvsem padavin) ter vrste rastlinskega pokrova (Kabata–Pendias in Pendias, 1984).

Človek je težkim kovinam iz tal izpostavljen z vdihavanjem in zauživanjem delcev onesnaženih tal, preko hrane, ki je pridelana na onesnaženih tleh, ter s pitjem vode, ki je kontaminirana zaradi pronicanja težkih kovin iz tal v podtalnico. Velik problem predvsem za kmetijstvo, predstavljajo tudi tla, onesnažena s težkimi kovinami, saj lahko težke kovine prehajajo v prehranjevalno verigo in postanejo nevarne za zdravje ljudi in živali. Kemijska oblika, v kateri se težke kovine nahajajo v tleh, je pri tem bistvena, saj določa biodosegljivost in mobilnost težkih kovin v tleh (Leštan, 2002).

#### 2.1.1 Svinec

Svinec s simbolom Pb je kemijski element IV. skupine periodnega sistema. Svinec je v tleh lahko naravno prisoten, zelo pogosto pa so koncentracije Pb povečane zaradi antropogenega onesnaženja tal. Najpogosteje so tla onesnažena v okolici metalurške industrije in topilnic, ob cestah zaradi uporabe osvinčenega bencina v preteklosti, kmetijska zemljišča pa so onesnažena zaradi gnojenja s komposti in blati čistilnih naprav ter uporabe nekaterih insekticidov (Leštan, 2002).

Za rastline svinec ni esencialni element. V rastlinskih tkivih lahko svinec zaradi biološkega antagonizma zamenja kalcij in nekatere druge elemente. Toksični učinki na rastline se

kažejo kot inhibicija respiracije in fotosinteze (Kabata-Pendias in Pendias, 1984) in kot zmanjšana rast (Bergmann, 1992).

Toksične učinke svınca so poznali že v stari Grčiji. Glavna pot vnosa Pb v telo je zaužitje onesnaženih tal in vdihavanje s svincem bogatih prašnih delcev. Svinec zaužijemo tudi s hrano. Pri človeku svinec povzroča metabolne, krvne in ledvične bolezni, ovira vezavo Fe na protoporfirin, povzroča anemijo. Posebno ogrožena skupina so otroci, ki 50 % svınca zaužijejo direktno (geofagija) iz onesnaženih tal in ga 40–50 % sprejetega njihovo telo tudi zadrži.

Pb je v tleh med težkimi kovinami najmanj mobilna (Kabata-Pendias in Pendias, 1984). Močno se veže na adsorpcijski kompleks tal, zato večinoma ostaja v vrhnjih slojih tal, vezan na netopne stabilne mineralne oblike - na glinene minerale in organsko snov, v kateri so pogosto ugotovljene največje koncentracije Pb (Kabata-Pendias in Pendias, 1984). Kot tak je težko dostopen za rastline.

Dostopnost svınca je odvisna od pH tal, deleža organske snovi in deleža glinenih delcev v tleh. Kjer so tla kislila, se večji delež Pb nahaja v talni raztopini in lahko prehaja v rastline. Na splošno velja, da čim večja je koncentracija Pb v tleh, več ga je v rastlinah in posledično tudi v hrani (Oliver, 1997). Z apnenjem se topnost in biodostopnost Pb močno zniža (Kabata-Pendias in Pendias, 1984).

## 2.2 DOSTOPNOST IN MOBILNOST TEŽKIH KOVIN V TLEH

Težke kovine se v tleh nahajajo v različnih ionskih oblikah, ki so bodisi v talni raztopini, ali vezane na različne dele trdne faze tal (Leštan in sod., 2003). To porazdelitev težkih kovin v tleh med posamezne frakcije imenujemo frakcionacija (speciacija) težkih kovin.

Biodostopnost težkih kovin v tleh je močno odvisna od porazdelitve težkih kovin v tleh in od oblike, v kateri se nahajajo v tleh. Vsebnost kovin v talni raztopini je glavni pokazatelj biodosegljivosti kovin v tleh (Alloway in sod., 1988, cit. po Rieuwerts in sod., 1998) Porazdelitev kovin med trdo fazo in tekočo fazo tal se meri in ocenjuje s porazdelitvenim koeficientom. Porazdelitveni koeficient,  $K_d$ , se izračuna po enačbi (1).

$$K_d = \frac{[M]_s}{[M]_L} \quad \dots(1)$$

$[M]_s$  je količina absorbiranih kovin na enoto mase tal,  $[M]_L$  pa predstavlja količino kovin v talni raztopini na volumen tekočine (Rieuwerts in sod., 1998). Kovine zaradi preperevanja trdne faze tal nepretrgoma prehajajo v talno raztopino. Ko govorimo o nedosegljivosti kovin rastlinam in živalim, imamo v mislih kovine, vezane v kristalne rešetke glinenih mineralov, in na karbonate, specifično adsorbirane na okside Fe in Mn, ali vezane na netopno organsko snov (Thornton, 1995, cit. po Rieuwerts in sod., 1998), odvisno od prisotnih fizikalnih in kemičnih lastnosti tal. Najbolj dostopne oblike so: ioni težkih kovin v talni raztopini, ioni težkih kovin, ki so izmenljivo adsorbirani na površino talnih koloidov, in del organsko vezanih težkih kovin. Na splošno je v tleh le majhen del kovin v sledovih v rastlinam dostopnih oblikah (Kabala in Singh, 2001).

Mobilnost, dostopnost in obstojnost težkih kovin v tleh je odvisna predvsem od (Ross, 1994):

- prevladujočih fizikalnih in kemičnih lastnosti tal, kot so kislost, zasičenost z vodo, prisotnost gline, Fe in Mn oksidov ter organske snovi,
- hidrologije tal na območju onesnaženja, ki ne le da razredči in situ vpliv, ampak tudi transportira onesnažila na nova še neonesnažena območja,
- rastlinskega pokrova in mikroorganizmov v tleh, ki akumulirajo in reciklirajo kovine.

Premeščanje težkih kovin med trdno in tekočo fazo v tleh, od dostopnih do nedostopnih oblik in obratno, torej frakcionacijo težkih kovin v tleh določajo številni procesi v tleh (Rieuwerts in sod., 1998; Leštan, 2002).

- **Ionska izmenjava.** Kovinski kationi so reverzibilno z elektrostatično vezavo vezani na negativno nabito površino talnih koloidov: mineralov gline in humusa. Negativni naboj površine talnih koloidov nevtralizirajo kationi iz talne raztopine, ki se glede na pH talne raztopine ter koncentracijo in afiniteto kationov do izmenjalnih mest izmenjujejo. Kationska izmenjalna kapaciteta humusa in večine glin je odvisna od pH (Leštan, 2002).
- **Specifična adsorpcija.** Težke kovine z električno nabitimi površinami glinenih mineralov, humusom in predvsem hidratiranimi oksidi Al, Fe in Mn tvorijo delne kovalentne vezi. Specifična adsorpcija je močno odvisna od pH. Kovine se specifično vežejo po prednostnem redu, na primer: Cd<Zn<Cu<Pb. Vezavna mesta za selektivno adsorpcijo so torej selektivna za specifične katione, kar pomeni, da na vezavo kationov z visoko afiniteto do vezavnega mesta morebitna visoka koncentracija drugih kationov ne vpliva veliko (Leštan, 2002).
- **Raztapljanje in obarjanje.** Kovine se iz talne raztopine lahko obarijo kot fosfati, karbonati, sulfati ali hidroksidi (Rieuwerts in sod. 1998). Na obarjanje vpliva pH talne raztopine. V kislih tleh je obarjanje manjše. Raztapljanje in obarjanje soli lahko predvidimo na osnovi topnostnega produkta. Vendar pa so tla in talna raztopina zaradi številnih kompetitivnih reakcij tako kompleksen medij, da je tako napovedovanje večkrat zelo težko izvedljivo (Leštan, 2002).
- **Prodiranje (penetracija) težkih kovin v kristalno strukturo** alumosilikatnih glinenih mineralov, kjer pride do izomorfične izmenjave (tj. izmenjave s snovjo z enako kemijsko obliko) s silicijem (Si) in aluminijem (Al) (Leštan, 2002).
- **Nastanek koordinacijskih, kompleksnih spojin.** Težke kovine v talni raztopini tvorijo koordinacijske spojine tako z organskimi kot z anorganskimi ligandi. Do 99 % vseh kovin v talni raztopini je lahko prisotno v obliki koordinacijskih spojin (Berrow in Mitchell, 1998, cit. po Rieuwerts in sod., 1998). Organski ligandi so lahko citronska ali oksalna kislina ali pa bolj kompleksne snovi, kot so na primer fulvo in huminske kisline. Najpomembnejša anorganska liganda sta hidroksidni in



kloridni ion. V talni raztopini je na primer svinec prisoten v obliki koordinacijskih spojin  $\text{Pb}(\text{OH})^+$  in  $\text{PbCl}^+$ . Težke kovine v koordinacijskih spojinah imajo drugačno sposobnost vezave kot preostale težke kovine (Leštan, 2002).

- **Biološka mobilizacija in imobilizacija** sta procesa, ki se dopolnjujeta. Prvi označuje prehod težkih kovin iz tal v žive organizme in rastline, drugi pa nadaljevanje te poti po prehrabnih nivojih in verigah (Leštan, 2002).

Te reakcije vplivajo na prehajanje težkih kovin med frakcijami in so odvisne od številnih lastnosti tal, kot so (Rieuwerts in sod., 1998; Leštan, 2002):

- **pH tal** je najpomembnejši dejavnik, ki vpliva na koncentracijo topnih in s tem rastlinam dostopnih kovin. Z zniževanjem pH se zmanjšuje delež obarjenih kovin. Glavna pot zmanjševanja koncentracije kovinskih ionov v talni raztopin postane sorpcija. Pri manjših pH talne raztopine je koncentracija protonov ( $\text{H}^+$ ) večja. Posledica tega je protonacija karboksilnih kislin humusa ter s tem zmanjšanje kationske izmenjalne kapacitete pri pH manjšem od 5. Zaradi velike koncentracije  $\text{H}^+$  ionov ti močno konkurirajo in izpodrivajo kovinske katione iz tistih vezanih mest talnih koloidov, ki sicer niso odvisna od pH. Zaradi navedenih procesov se delež težkih kovin v talni raztopini veča z zniževanjem pH talne raztopine (Leštan, 2002);
- **redoks potencial**. (Eh) predstavlja težnjo tal in drugih sistemov po sprejemanju ali oddajanju elektronov, kar ustvarja razliko potencialov in s tem omogoča prenos elektronov. Velja, da je delež vodotopnih specij kovin v talni raztopini večji v tleh nasičenih z vodo z nizkimi vrednostmi redoks potenciala (Leštan, 2002);
- **delež gline v tleh**. Glineni minerali omogočajo adsorpcijo težkih kovin zaradi ionske izmenjave in specifične adsorpcije. (Farrah in Pickering, 1997; cit. po Rieuwerts, 1998). Sorpcijo kovin omogočajo zaradi elektrostatične kationske izmenjave in specifične adsorpcije. Ti mehanizmi so za različne gline različni in v glavnem neodvisni od pH talne raztopine (Leštan, 2002). Glina je poleg organske snovi glavni dejavnik, ki vpliva na adsorpcijo svinca (Rieuwerts in sod., 1998);
- **delež organske snovi v tleh**. Vpliva na obseg kationske izmenjave težkih kovin in specifične adsorpcije težkih kovin. Organska snov ima veliko sposobnost adsorpcije zaradi močno izraženega negativnega naboja in velike disperznosti. Poleg tega pa kovine z raztopljen organsko snovjo tal tvorijo tudi koordinacijske spojine, le-te raztopljene v talni raztopini omogočajo izpiranje težkih kovin iz tal (Leštan, 2002);
- **železovi in manganovi oksidi**. Vplivajo na znižanje koncentracije težkih kovin v talni raztopini z reakcijami obarjanja težkih kovin v netopne spojine ter s specifično adsorpcijo težkih kovin. Afiniteta oksidov do težkih kovin je različna. Manganovi oksidi imajo močnejšo afiniteto, medtem ko imajo do cinka tako železovi kot manganovi oksidi približno enako afiniteto;

- **prisotnost ostalih kationov in anionov v talni raztopini.** Velika koncentracija ionov v talni raztopini vodi v večje tekmovanje za vezavna mesta na trdnih fazah tal, ki so na razpolago za ionsko izmenjavo ali specifično sorpcijo. Posledično lahko to vodi do večjega deleža kovin v talni raztopini. Nekateri anioni s težkimi kovinami tvorijo netopne soli, na primer fosfati s svincem (Leštan, 2002).

### 2.3 FRAKCIONACIJA TEŽKIH KOVIN V TLEH

Skupna vsebnost težkih kovin, ki jo ugotavljamo z metodami, ki temeljijo na razklopu z močnimi kislinami (zlatotopka), nam ne daje informacij o biološki dostopnosti in mobilnosti težkih kovin v tleh. Na težke kovine v tleh vplivajo geokemični in biogeokemični procesi, zaradi česar so težke kovine različno porazdeljene med talne faze ali frakcije (Rieuwerts in sod., 1998). Oblike težkih kovin nimajo enakega vpliva na okolje, saj niso v celoti dostopne rastlinam in niso mobilne. Da bi lahko pojasnili vpliv kovin na okolje moramo ugotoviti oblike oz. frakcije, v katerih se težke kovine pojavljajo v tleh in s tem njihovo mobilnost in dosegljivost (Bačac, 2005).

Najbolj pogost postopek za ugotavljanje porazdelitve težkih kovin je sekvenčna ekstrakcija.

Glavne oblike mobilnih in nemobilnih oblik težkih kovin v tleh, ki jih lahko ugotavljamo s sekvenčnimi ekstrakcijami, so (Berrow in Burridge, 1980, cit. po Ross 1994):

- težke kovine v talni raztopini: ioni, molekule, koordinacijske spojine in koloidi;
- izmenljive težke kovine: lahko izmenljivi ioni v anorganskih in organskih frakcijah;
- težke kovine v adsorpcijskih kompleksih: čvrsto vezani ioni;
- težke kovine, vključene v oborjenih seskvioksidih in netopne soli;
- težke kovine, vezane v kristalnih strukturah sekundarnih glinenih mineralov.

### 2.4 METODA SEKVENČNIH EKSTRAKCIJ

Metoda sekvenčnih ekstrakcij težkih kovin je laboratorijski postopek izločanja težkih kovin iz tal z zaporednimi ekstrakcijami z uporabo različnih ekstrakcijskih raztopin (kemičnih reagentov). Z reagenti, ki imajo različne kemijske lastnosti, spremenimo razmere v tleh in s tem omogočimo ekstrakcijo kovin iz različnih talnih frakcij, na primer ustvarimo rahlo kisle razmere in omogočimo sproščanje iz karbonatov, spremenimo redoks potencial raztopine, oksidiramo organsko snov ter sprostimo vezane kovine (Wassay in sod., 1998; Leštan in sod., 2003).

Na ta način ugotovimo, kolikšen delež kovin v tleh je prisoten v talni raztopini, izmenljivo vezan na talne koloide, na karbonate, na manganove in železove okside in na organsko snov ter kolikšen delež kovin v tleh je obstoječih kot netopni produkti (Ross, 1994). Metoda sekvenčnih ekstrakcij nam tako poda podatke o deležih rastlinam dostopnih težkih kovin, to je o mobilnih oblikah težkih kovin - vodotopne in s tem prisotne v talni raztopini, izmenljive s talnih koloidov (Kabala in Singh, 2001) ter informacije o deležih rastlinam

nedostopnih težkih kovin, to je nemobilnih oblikah težkih kovin. Te lahko postanejo tudi dostopne, zaradi procesov preperevanja in razgradnje.

V literaturi zasledimo veliko število različnih protokolov sekvenčnih ekstrakcij, ki največkrat temeljijo na metodi, ki jo je razvil A. Tessier s sodelavci (1979). Metode sekvenčnih ekstrakcij se razlikujejo v številu zaporednih ekstrakcij ter vrsti in zaporedju uporabljenih reagentov. Sekvenčne ekstrakcije začnemo z najšibkejšimi, manj agresivnimi kemičnimi reagenti, ki so najbolj selektivni za posamezne frakcije in končamo z najmočnejšimi, najbolj agresivnimi reagenti, ki so najmanj selektivni za posamezne frakcije (Ross, 1994).

Pri sekvenčnih ekstrakcijah se za izločitev posamezne talne frakcije uporabljajo ustrezni selektivni reagenti. Različni avtorji uporabljajo različne kemične reagente za ugotavljanje težkih kovin, vezanih na različne talne frakcije, vendar pa kljub temu obstaja splošni dogovor o vrsti reagentov za posamezno frakcijo (Ross, 1994):

- za ekstrakcijo frakcije topnih težkih kovin in težkih kovin, izmenljivih s talnih koloidov se običajno uporablja: razredčene raztopine soli kalcijevega klorida ( $\text{CaCl}_2$ ), kalcijevega nitrata ( $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ), kalijevega nitrata ( $\text{KNO}_3$ ), magnezijevega klorida ( $\text{MgCl}_2$ ), magnezijevega nitrata ( $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ ), natrijevega nitrata ( $\text{NaNO}_3$ );
- za ekstrakcijo frakcije težkih kovin, vezanih na karbonate: amonacetat ( $\text{NH}_4\text{OAc}$ ), natrijev acetat ( $\text{NaOAc}$ );
- za ekstrakcijo frakcije težkih kovin, vezanih na manganove in železove okside: reducirajoči reagenti hidrosilamin hidroklorid ( $\text{NH}_2\text{OH}\times\text{HCl}$ ), amonijev oksalat ( $\text{NH}_4\text{C}_2\text{O}_4$ );
- za ekstrakcijo frakcije težkih kovin, vezanih na organsko snov oksidirajoči reagenti: vodikov peroksid ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), natrijev perklorid ( $\text{NaOCl}$ ), kalijev difosfat ( $\text{K}_4\text{P}_2\text{O}_7$ );
- za ekstrakcijo frakcije težkih kovin v preostanku oz. vezanih v kristalne oblike sekundarnih mineralov: kombinacija močnih, koncentriranih kislih dušikove (V) kisline ( $\text{HNO}_3$ ) in fluorovodikove kisline (HF) ali  $\text{HNO}_3$  in klorovodikove kisline (HCl) pri visokih temperaturah.

Metoda sekvenčnih ekstrakcij je relativno preprosta metoda, vendar pa so izkušnje pokazale, da lahko v postopkih naletimo na težave: občutljivost na spremembe pri izvedbi postopka, omejitve pri selektivnosti reagentov, preobremenitev kemijskega sistema ekstrakcije pri visokih vsebnostih težkih kovin. Velik vpliv ima izbira kemičnega reagenta za določeno frakcijo in kontaktni čas med tlemi in reagentom, razmerje med maso tal in volumnom ekstrakcijske raztopine, volumen ekstrakcijske posode, temperatura ekstrakcije, metoda in intenzivnost stresanja ekstrakcijskih raztopin, ponovna adsorpcija in obarjanje težkih kovin v različnih fazah ekstrakcije (Ramos in sod., 1994; Chlopecka in sod., 1996; Ross, 1994). Sekvenčne ekstrakcije pa kljub vsem težavam ostajajo široko uporabljen postopek za ugotavljanje frakcionacije težkih kovin.

## 2.4.1 Šeststopenjska Tessier-jeva sekvenčna ekstrakcija težkih kovin

Šeststopenjska sekvenčna ekstrakcija težkih kovin je razvita na osnovi sheme, ki jo je leta 1979 prvi razvil in objavil A. Tessier s sodelavci. Njihova shema je bila prvotno razvita za ekstrakcijo težkih kovin iz onesnaženih rečnih sedimentov (Ross, 1994) in ločuje pet skupin talnih frakcij, ki so, sodeč po drugi literaturi, med najpogosteje uporabljenimi za določanje frakcionacije težkih kovin v tleh:

### I. Izmenljivo vezane težke kovine

Težke kovine v tej skupini so na talne delce nespecifično adsorbirane in ionsko izmenljive. Procese adsorpcije in desorpcije dosežemo z reagenti, ki vplivajo na spremembe v ionski sestavi vode (Tessier in sod., 1979). Težke kovine v izmenljivostni frakciji so rahlo vezane in jih zato hitro ekstrahiramo. Delež kovin, ki so izmenljivo vezane, se niža pri višjem pH, ker se kovine, posebej svinec, močnejše veže na trdno fazo tal (Tessier in sod., 1979).

### II. Težke kovine, vezane na karbonate

Frakcija je dovzetna za spremembe pH. Čas, ki je potreben za raztapljanje karbonatov, je odvisen od vrste karbonatov, njihove vsebnosti, velikosti vzorca in velikosti talnih delcev (Tessier in sod., 1979).

### III. Težke kovine, vezane na manganove in železove okside

Težke kovine v tej frakciji so vezane na železove, manganove in aluminijeve okside. Ti oksidi pa so odlična skladišča težkih kovin. V tleh so stabilni dokler so pogoji v tleh aerobni, nestabilni postanejo v anaerobnih pogojih, ko preidejo v talno raztopino (Tessier in sod., 1979).

### IV. Težke kovine, vezane na organsko snov

Težke kovine se vežejo na organsko snov z različnimi mehanizmi: z adsorpcijo, s tvorbo koordinacijskih spojin, s peptizacijo. Lahko pa so vezane v različnih živih organizmih. V procesih oksidacije se organska snov razgradi, pri čemer pride do sprostitve ionov težkih kovin v talno raztopino (Tessier in sod., 1979). Wassay in sodelavci (1998) so v tej frakciji odkrili do 40 % skupnega svinca v tleh. Visok delež svinca in ostalih težkih kovin kaže na visoko afiniteto organske snovi do težkih kovin, zaradi skupin, ki tvorijo kelate s težkimi kovinami (Wassay in sod., 1998).

### V. Težke kovine, vezane v preostanku

Po ekstrakciji prvih štirih frakcij preostanek vsebuje v glavnem primarne in sekundarne minerale. Težke kovine so vezane v njihovi kristalni strukturi. V naravi se težke kovine sprostijo le pod dolgotrajnimi vplivi okolja (Tessier in sod., 1979). V postopku ekstrakcije postanejo dostopne le pri stiku z močno, koncentrirano kislino pri povišani temperaturi (Wassay in sod., 1998). Deleži kovin v tej frakciji so višji kot v prejšnjih frakcijah (Tessier in sod., 1979).

## 2.4.2 Štiristopenjska BCR sekvenčna ekstrakcija

V zadnjem času se vse bolj uveljavlja modificirana štiristopenjska BCR sekvenčna ekstrakcija, ki je krajša, enostavnejša in ima na razpolago komercialni referenčni material, kar omogoča sledenje točnosti izvajanja postopkov. Razvita je bila z namenom poenotenja metod, kar omogoča tudi večjo primerljivost med različnimi študijami.

Ravno zaradi neenotnosti in uporabe številnih metod sekvenčnih ekstrakcij, ki ne omogočajo primerljivosti med študijami, je Evropska komisija s pomočjo BCR (Community Bureau of Reference) in njegovega naslednika (Standards, Measurements and Testing Programme) sprožila projekt za standardizacijo sekvenčnih ekstrakcij (Rauret in sod., 1999, Bacon in Davidson, 2008). Cilji tega projekta so bili (Rauret in sod., 1999):

- določiti metodo tristopenjske sekvenčne ekstrakcije,
- preizkusiti izbrano metodo sekvenčne ekstrakcije v medlaboratorijskih študijah,
- pripraviti referenčni material in testirati metodo na referenčni material (rečni sediment).

Pri modificirani metodi BCR sekvenčne ekstrakcije si frakcije sledijo po naslednjem vrstnem redu:

I. Težke kovine, ki so topne, izmenljivo vezane in vezane na karbonate

(izmenljiva, topna v vodi in kislinah) zajema topne oblike težkih kovin v talni raztopini, težke kovine, izmenljive s talnih koloidov in težke kovine, vezane na karbonate (v nadaljevanju težke kovine, ki so topne, izmenljivo vezane in vezane na karbonate);

II. Težke kovine, vezane na Fe in Mn okside

(frakcija po redukciji) zajema težke kovine, vezane na Fe in Mn okside in hidrokside (v nadaljevanju težke kovine, vezane na Fe in Mn okside);

III. Težke kovine, vezane na organsko snov

(frakcija po oksidaciji) zajema težke kovine, vezane na organsko snov tal in sulfide (v nadaljevanju težke kovine, vezane na organsko snov);

IV. Ostane

(ostanek) predstavlja ostale, po večini nesilikatne oblike.

Raziskave so pokazale na nekatere težave pri štiristopenjski BCR sekvenčni ekstrakciji. Analiza referenčnih materialov je pokazala nezadostno ponovljivost metode, nesprejemljivo variabilnost rezultatov v drugi frakciji (težke kovine vezane na Fe in Mn okside). Zaradi tega so rezultate usmerili v odpravljanje napak in optimalizacijo metode (Rauret in sod., 1999). Predlagali so nekatere modifikacije. Najpomembnejša je bila povišana koncentracija in zmanjšanje pH reagenta hidroksilamin hidroklorida ( $\text{NH}_2\text{OH}\times\text{HCl}$ ) za drugo frakcijo (Rauret in sod., 1999; Davidson in sod., 2004, Bacon in Davidson, 2008) (preglednica 1). To dvoje je zaradi učinkovitejšega razpada druge frakcije (frakcija po redukciji) izboljšalo ponovljivost metode (Mossop in Davidson, 2003).

Kvantificirali so tudi koncentracijo težkih kovin, ki ostane v tleh po ekstrakcijah (v nadaljevanju ostanek), ki je prvotno niso določevali. Kvantifikacija ostanka je omogočila določitev izkoristka sekvenčnih ekstrakcij (Davidson in sod., 2004). Raziskave pa so tudi nakazovale, da BCR metoda ni primerna za tla, bogata s karbonati (Grčman in sod., 2005a).

Preglednica 1: Primerjava originalne in modificirane BCR sekvenčne ekstrakcije (Rauret in sod., 1999; Mossop in Davidson, 2003; Davidson in sod., 2004; Bacon in Davidson, 2008).

<b>FRAKCIJA</b>	<b>TARČNA FAZA V TLEH</b>	<b>ORIGINALNA BCR SEKVENČNA EKSTRAKCIJA</b>	<b>MODIFICIRANA BCR SEKVENČNA EKSTRAKCIJA</b>
I. izmenljiva, topna v vodi in kislinah	topne oblike, karbonati, kationska izmenjalna mesta	0,1 mol <sup>-1</sup> očetna kislina (CH <sub>3</sub> COOH)	0,11 mol <sup>-1</sup> očetna kislina (CH <sub>3</sub> COOH)
II. frakcija po redukciji	Fe in Mn oksidi in hidroksidi	0,1 mol <sup>-1</sup> hidroksilamin hidroklorid (NH <sub>2</sub> OH×HCl) pri pH 2	0,5 mol <sup>-1</sup> hidroksilamin hidroklorid (NH <sub>2</sub> OH×HCl) pri pH 1,5
III. frakcija po oksidaciji	organska snov in sulfidi	vodikov peroksid (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) in nato 1,0 mol <sup>-1</sup> amonijev acetat (CH <sub>3</sub> COONH <sub>4</sub> ) pri pH 2	vodikov peroksid (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) in nato 1,0 mol <sup>-1</sup> amonijev acetat (CH <sub>3</sub> COONH <sub>4</sub> ) pri pH 2
IV. ostanek po ekstrakcijah	ostale nesilikatne oblike		zlatotopka (HCl+HNO <sub>3</sub> )

### 3 MATERIAL IN METODE

#### 3.1 IZBOR VZORCEV

V nalogo smo vključili pet talnih vzorcev in referenčni material BCR 701. Talni vzorci so bili izbrani izmed 130 vzorcev, ki so bili povzorčeni in analizirani v okviru projekta URBOSOIL (Urban Soils as a Source and Sink for Pollution: Towards a Common European Methodology for the Evaluation of their Environmental Quality as a Tool for Sustainable Resource Management) v katerem je sodeloval Center za pedologijo in varstvo okolja (CPVO) med leti 2002 in 2004 (Grčman in sod., 2005b). V nalogi so označeni z oznako MOL in šifro vzorca.

Talni vzorci so bili odvzeti s sondo iz nerjavečega jekla (dolžine ~ 40 cm in notranjega premera ~ 5 cm). Za povprečni talni vzorec je bilo potrebnih približno 20 vbodov sonde na površini 10 m<sup>2</sup>. Vzorčili so ločeno dve globini: 0-10 cm in 10-20 cm. Vzorci so bili ročno zdrobljeni, homogenizirani, sušeni pri 26 °C 3-4 dni, strti v keramični terilnici in presejani skozi 2 mm sito. V analizo frakcionacije so bili vključeni samo zgornji sloji tal (Perič, 2004).



Slika 1: Vrtec MOL 10789; Vrtec Jarše-Rož Pokopališka 30



Slika 2: Križišče MOL 11027; Šmartinska in Savska cesta



Slika 3: Vrtec MOL 10282; Vrtec Mladi rod, Peričeva 6



Slika 4: Vrtec MOL 14275; Vrtec Center, Strossmayerjeva 3



Slika 5: Križišče MOL 14707; Trg mladinskih delovnih brigad

## 3.2 ANALITSKE METODE

### 3.2.1 Skupna vsebnost težkih kovin v tleh

Skupno vsebnost težkih kovin v talnih vzorcih smo določili po razkroju z zlatotopko (ISO 11466, 1995; ISO/DIS 11047, 1995). Presejane talne vzorce (<2 mm) smo dodatno zmleli v ahatni terilnici in presejali skozi plastično sito (160  $\mu\text{m}$ ). V reakcijske posode, volumna 250 ml smo natehtali po 3g vzorca, ga navlažili s približno 0,5-1 ml vode in dodali 21mL 37 % HCl in po kapljicah 7 mL 65% HNO<sub>3</sub>. Reakcijske posode smo opremili s povratnimi hladilniki in pustili stati 16 ur pri sobni temperaturi. Nato smo reakcijsko mešanico segrevali 2 uri v termobloku. Po končanem razklopu smo ekstrakte prefiltrirali v 100 mL bučke in dopolnili z deionizirano vodo. Posamezne elemente v ekstraktih smo pomerili z metodo AAS (Perkin Elmer 1100). Kontrolo analitskih vzorcev smo zagotovili s slepimi vzorci in s standardnim referenčnim materialom (BCR 701, Community Bureau of Reference).

### 3.2.2 Frakcionacija težkih kovin v tleh - metoda sekvenčnih ekstrakcij

Frakcionacijo težkih kovin petih vzorcev smo določili z modificirano šeststopenjsko Tessier-jevo metodo sekvenčnih ekstrakcij (Tessier in sod., 1979) po shemi, ki je prikazana v preglednici 2 in z modificirano štiristopenjsko BCR metodo sekvenčnih ekstrakcij (Rauret in sod., 1998; Mossop in Davidson, 2003), ki je prikazana v preglednici 3. Kontaminacijo vzorcev smo skozi celoten postopek preprečili s pranjem laboratorijskega materiala s 65 % HNO<sub>3</sub> in z večkratnim splakovanjem z deionizirano vodo. Težke kovine v ekstraktih smo pomerili z metodo atomske absorpcijske spektrometrije (AAS). Kontrolo analitskih vzorcev smo zagotovili s slepimi vzorci in standardnim referenčnim materialom (BCR 701, Community Bureau of Reference).



## Tessier-jeva sekvenčna ekstrakcija

Preglednica 2: Pregled reagentov v postopku sekvenčne ekstrakcije, modificirana metoda (Tessier in sod., 1979)

Frakcija težke kovine	Ekstrakcijska raztopina (reagenti za 1 g zračno suhih tal)
Topna v talni raztopini (I.)	10 mL deionizirane H <sub>2</sub> O
Izmenljiva (II.)	10 mL 1M Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O + 8 mL deionizirane H <sub>2</sub> O
Vezana na karbonate (III.)	10 mL 1M NH <sub>4</sub> OAc (pH 5) + 8mL deionizirane H <sub>2</sub> O
Vezana na Fe in Mn okside (IV.)	20 mL 0,1 M NH <sub>2</sub> OH×HCl + 8mL deionizirane H <sub>2</sub> O
Vezana na organsko snov (V.)	3mL 0,02M HNO <sub>3</sub> (65 %)+5mL H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (30 %) + 15 mL 1M NH <sub>4</sub> OAc v 6 % (v/v) HNO <sub>3</sub> (65 %) + 8mL deionizirane H <sub>2</sub> O
Ostanek (VI.)	21 mL HCl (37%) in 7mL HNO <sub>3</sub> (65%)

### Težke kovine, topne v talni raztopini

V polipropilenske (PP) 50 mL centrifugirke smo natehtali 1 g talnega vzorca (zračno suhega in presejanega skozi 2 mm sito), ga prelili z 10 mL deionizirane H<sub>2</sub>O in stresali 1 uro na stresalniku s 400 tresljaji na minuto pri sobni temperaturi. Suspenzijo smo centrifugirali pri 3000 obratih na minuto 30 minut. Supernatant, to je bistro ekstrakcijsko raztopino smo odpipetirali v polipropilensko (PE) plastenko, pomerili pH ekstrakcijske raztopine, ter ga shranili pri 4 °C do analize z AAS, s katero smo ugotavljali vsebnost Pb za to frakcijo.

### Izmenljive težke kovine

Ostanku iz prejšnje ekstrakcije smo dodali 10 mL 1M raztopine Mg(NO<sub>3</sub>) × 6H<sub>2</sub>O, stresali 2 uri na stresalniku pri sobni temperaturi in centrifugirali 30 minut. Supernatant (ekstrakcijsko raztopino) smo odpipetirali v PE plastenko, pomerili pH ekstrakcijske raztopine, ter shranili pri 4 °C do analize z AAS, s katero smo ugotavljali vsebnost Pb za to frakcijo.

Ponovili smo ekstrakcijo z 8 mL deionizirane H<sub>2</sub>O, stresali na stresalniku 5 minut, ponovno centrifugirali in nato ekstrakcijsko raztopino previdno odlili in zavrgli.

### Težke kovine, vezane na karbonate

Ostanku iz prejšnje ekstrakcije smo dodali 10 mL 1M raztopine NH<sub>4</sub>OAc pH 5, stresali na stresalniku 5 ur in centrifugirali 30 minut. Supernatant (ekstrakcijsko raztopino) smo odpipetirali v PE plastenko, pomerili pH ekstrakcijske raztopine ter shranili pri 4 °C do analize z AAS, s katero smo ugotavljali vsebnost Pb za to frakcijo.

Ponovili smo ekstrakcijo z 8 mL deionizirane H<sub>2</sub>O, stresali na stresalniku 5 minut, ponovno centrifugirali in nato ekstrakcijsko raztopino previdno odlili in zavrgli.

### Težke kovine, vezane na Fe in Mn okside

Ostanku iz prejšnje ekstrakcije smo dodali 20 mL 0,1 M raztopine NH<sub>2</sub>OH × HCl (pH 2 smo uravnavali s HNO<sub>3</sub>), stresali na stresalniku 12 ur in centrifugirali 30 minut.

Supernatant (ekstrakcijsko raztopino) smo odpipetirali v PE plastenko, pomerili pH ekstrakcijske raztopine ter shranili pri 4 °C do analize z AAS, s katero smo ugotavljali vsebnost Pb za to frakcijo.

Ponovili smo ekstrakcijo z 8 mL deionizirane H<sub>2</sub>O, stresali na stresalniku 5 minut, ponovno centrifugirali in nato ekstrakcijsko raztopino previdno odlili in zavrgli.

#### Težke kovine, vezane na organsko snov

Ostanku iz prejšnje ekstrakcije smo dodali 3 mL 0,02M raztopine HNO<sub>3</sub> (65 %), in centrifugirke namestili v vodno kopel s temperaturo 85 °C. Vsakemu vzorcu smo postopoma dodali 5 mL 30 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in segrevali 3 ure, da je ves H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> izparel. Centrifugirke smo ohladili in dodali 15 mL 1M raztopine NH<sub>4</sub>OAc v 6 % (v/v) HNO<sub>3</sub>, stresali na stresalniku 30 minut in centrifugirali 30 minut. Bistro ekstrakcijsko raztopino smo odpipetirali v PE plastenko, pomerili pH ekstrakcijske raztopine ter shranili pri 4 °C do analize z AAS, s katero smo ugotavljali vsebnost Pb za to frakcijo.

Ponovili smo ekstrakcijo z 8 mL deionizirane H<sub>2</sub>O, stresali na stresalniku 5 minut, ponovno centrifugirali in nato ekstrakcijsko raztopino previdno odlili in zavrgli.

#### Ostanek

Ostanek iz prejšnje ekstrakcije smo iz centrifugirk kvantitativno prenesli v steklene reakcijske posode za razklop, dodali 21 mL HCl (37 %) in 7 mL HNO<sub>3</sub> (65 %) jih opremili s povratnimi hladilniki in pustili stati 16 ur pri sobni temperaturi. Reakcijsko mešanico smo segrevali 2 uri, ohladili in prefiltrirali v 100 mL bučko in dopolnili z DIN-kislino (35 mL koncentrirano HNO<sub>3</sub> v 1 L deionizirane H<sub>2</sub>O). Ekstrakcijsko raztopino smo odlili v PE plastenko ter shranili pri 4 °C do analize z AAS, s katero smo ugotavljali vsebnost Pb za to frakcijo.

### **Modificirana štiristopenjska BCR sekvenčna ekstrakcija**

Preglednica 3: Pregled reagentov v postopku modificirane štiristopenjske BCR sekvenčne ekstrakcije (Rauret in sod., 1999; Mossop in Davidson, 2003).

Frakcija težkih kovin	Ekstrakcijska raztopina (reagenti za 0,5 g zračno suhih tal)
Težke kovine, ki so topne, izmenljive, vezane na karbonate	20 mL 0,11 M CH <sub>3</sub> COOH
Težke kovine, vezane na Fe in Mn okside	20 mL 0,5 M NH <sub>2</sub> OH × HCl (pH 1,5)
Težke kovine, vezane na organsko snov	10 mL 8,8 M H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (pH 2-3) + 25 mL 1,0 M CH <sub>3</sub> COONH <sub>4</sub> (pH 2)
Ostanek	15 mL HCl + 5 mL HNO <sub>3</sub>

#### Težke kovine, ki so topne, izmenljivo vezane in vezane na karbonate

V polipropilenske (PP) 50 mL centrifugirke smo natehtali 0,5 g talnega vzorca (zračno suhega in presejanega skozi 2 mm sito), ga prelili z 20 mL 0,11M raztopine CH<sub>3</sub>COOH (ocetna kislina) in stresali na stresalniku 16 ur (čez noč) pri sobni temperaturi. Suspenzijo smo centrifugirali 20 minut na 4000 obratov na minuto. Supernatant, to je ekstrakcijsko

raztopino smo odlili v PE plastenko, pomerili pH ekstrakcijske raztopine in shranili pri 4 °C do analize z AAS, s katero smo ugotavljali vsebnost Pb za to frakcijo.

Ostanku smo dodali 10 mL deionizirane vode, stresali na stresalniku 15 minut, centrifugirali 20 minut in nato supernatant previdno odlili in zavrgli.

#### Težke kovine, vezane na Fe in Mn okside

Ostanku iz prejšnje ekstrakcije smo dodali 20 mL sveže pripravljene 0,5 M raztopine  $\text{NH}_2\text{OH} \times \text{HCl}$  (hidroksilamin hidroklorid; pH 1,5), stresali 16 ur na stresalniku pri sobni temperaturi in centrifugirali 20 minut. Supernatant (ekstrakcijsko raztopino) smo previdno odlili v PE plastenko, pomerili pH ekstrakcijske raztopine in shranili pri 4 °C do analize z AAS, s katero smo ugotavljali vsebnost Pb za to frakcijo.

Ostanku smo dodali 10 mL deionizirane vode, stresali na stresalniku 15 minut, centrifugirali 20 minut in nato supernatant previdno odlili in zavrgli.

#### Težke kovine, vezane na organsko snov

Ostanku iz prejšnje ekstrakcije smo dodali 5 mL 8,8 M  $\text{H}_2\text{O}_2$  (vodikov peroksid; pH 2-3), narahlo pokrili in z občasnim ročnim stresanjem pustili na sobni temperaturi 1 uro. Nato smo pokrite centrifugirke segrevali v vodni kopeli 1 uro, pri temperaturi  $85 \pm 2^\circ\text{C}$ . Nato smo z nadaljnjim segrevanjem nepokritih centrifugirk z izparevanjem zmanjšali volumen na manj kot 1,5 mL. Centrifugirke smo ohladili in ponovno dodali 5 mL 8,8 M  $\text{H}_2\text{O}_2$  ter pokrite centrifugirke 1 uro segrevali v vodni kopeli pri temperaturi  $85 \pm 2^\circ\text{C}$ . Z nadaljnjim segrevanjem nepokritih centrifugirk smo z izparevanjem zmanjšali volumen tekočine na približno 0,5 mL (tako, da smo dobili vlažen ostanek, pazili smo, da se ni posušil). Ohlajenemu vlažnemu ostanku smo dodali 25 mL 1,0M  $\text{CH}_3\text{COONH}_4$  (amonijev acetat; pH 2), stresali 16 ur pri sobni temperaturi in centrifugirali 20 minut. Supernatant (ekstrakcijsko raztopino) smo previdno odlili v PE plastenko, pomerili pH ekstrakcijske raztopine in shranili pri 4 °C do analize z AAS, s katero smo ugotavljali vsebnost Pb za to frakcijo.

Ostanku smo dodali 10 mL deionizirane vode, stresali na stresalniku 15 minut, centrifugirali 20 minut in nato supernatant previdno odlili in zavrgli.

#### Ostanek

Ostanek iz prejšnje ekstrakcije smo iz centrifugirk kvantitativno prenesli v steklene reakcijske posode za razklop, dodali 15 mL HCl (37 %) in 5 mL  $\text{HNO}_3$  (65 %), jih opremili s povratnimi hladilniki in pustili stati 20 ur pri sobni temperaturi. Reakcijsko mešanico smo segrevali 2 uri, ohladili in prefiltrirali v 50 mL bučko in dopolnili z deionizirano vodo. Ekstrakcijsko raztopino smo odlili v PE plastenko, ter shranili pri 4 °C do analize z AAS, s katero smo ugotavljali vsebnost Pb za to frakcijo.

### 3.2.3 pH ekstrakcijske raztopine

Vrednosti pH ekstrakcijske raztopine za štiristopenjsko BCR in šeststopenjsko Tessier-jevo sekvenčno ekstrakcijo smo merili z WTW pH metrom 538 pred in po končani ekstrakciji talnega vzorca po frakcijah. Meritve smo izvedli samo po prvih treh frakcijah za BCR shemo oziroma po prvih petih frakcijah za Tessier-jevo shemo.

Pred uporabo smo vedno umerili pH-meter s pufri (pH 4.0 oz. pH 7.0). Med posameznimi meritvami smo splakovali elektrode z deionizirano vodo in jo previdno popivnali.

### 3.2.4 Delež karbonatov v tleh

Karbonate v talnih vzorcih in v ostankih talnih vzorcev po vsaki izvedeni ekstrakciji smo merili po metodi SIST ISO 10693: Kakovost tal – Ugotavljanje vsebnosti karbonatov – volumetrična metoda temelji na reakciji prisotnih karbonatov s HCl (klorovodikovo kislino), pri kateri nastaja CO<sub>2</sub> (2).



Volumen CO<sub>2</sub>, ki se sprosti pri zgornji reakciji (2), smo merili s Scheiblerjevim aparatom. Na osnovi podatkov o volumnu CO<sub>2</sub>, temperaturi in zračnem pritisku smo po plinski enačbi izračunali vsebnost CaCO<sub>3</sub> v vzorcu.

#### Izračun

$$w_{\text{CaCO}_3} = [ ( (P \times V) / (T \times K) ) \times M \text{ CaCO}_3 ] / E \times 100 \quad \dots(3)$$

P - zračni pritisk [Pa]

V - odčitani volumen CO<sub>2</sub> [m<sup>3</sup>]

T - sobna temperatura [K]

E - zatehta [g]

K- konstanta [8,31 J/mol K]

M CaCO<sub>3</sub> = 100 [g/mol]

w<sub>CaCO<sub>3</sub></sub> – masni odstotek [%]

### 3.3 STATISTIČNA ANALIZA

Rezultate smo obdelali (računanje povprečja in standardne deviacije) in grafično prikazali s pomočjo računalniškega programa Microsoft Excel.

## 4 REZULTATI

### 4.1 PEDOLOŠKE LASTNOSTI

Vrednosti pedoloških lastnosti vzorcev MOL so bile podobne (preglednica 4), vzorci so se razlikovali predvsem po vsebnosti karbonatov. Delež organske snovi v tleh je bil od 8,4 do 10,4 %, organskega ogljika od 4,9 do 6,0 %, skupna vsebnost dušika od 0,32 do 0,34 %, pH tal od 7,0 do 7,3, kationska izmenjalna kapaciteta je bila od 26,6 do 33,4 mmol<sub>c</sub> 100g<sup>-1</sup>, delež bazičnih kationov od skupne kationske izmenjalne kapacitete od 83,8 do 91,1 %. Delež karbonatov je bil v vzorcih od 10,9 do 34,5 %. Skupna vsebnost Pb v tleh je bila od 103,0 do 191,8 mg/kg.

Preglednica 4: Vrednosti osnovnih pedoloških lastnosti.

Vzorec	Raba tal	Skupni Pb (mg kg <sup>-1</sup> )	Organska snov (%)	Organski C (%)	Skupna vsebnost dušika (%)	pH (CaCl <sub>2</sub> )	Kationska izmenjalna kapaciteta (mmol <sub>c</sub> 100 <sup>1</sup> )	V vrednost (%)*	Karbonati (%)
MOL10282	vrtec	103,0	10,4	6,0	0,32	7,1	27,7	84,1	15,1
MOL10789	vrtec	122,7	8,4	4,9	0,33	7,1	26,6	83,8	10,9
MOL14275	vrtec	191,8	9,2	5,3	0,32	7,0	30,8	90,3	34,5
MOL11027	križišče	118,1	9,8	5,7	0,33	7,3	31,3	91,1	32,5
MOL14707	križišče	146,1	9,9	5,7	0,34	7,0	33,4	91,0	33,2

\*delež bazičnih kationov od skupne kationske izmenjalne kapacitete

### 4.2 FRAKCIONACIJA SVINCA V TLEH PO ŠTIRISTOPENJSKI BCR SEKVENČNI EKSTRAKCIJI

Z metodo štiristopenjske BCR sekvenčne ekstrakcije smo ugotovili porazdelitev (frakcionacijo) svinca po posameznih talnih frakcijah. Rezultati (mg Pb/kg tal) so prikazani na sliki 6.

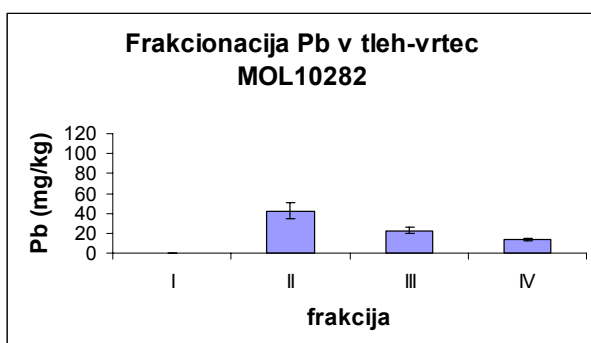
Koncentracija topnega, izmenljivega in karbonatno vezanega Pb (I. frakcija), je pod mejo detekcije, vezanega na Fe in Mn okside je med 15,6 in 120,2 mg/kg (10,7-86,5 %) vezanega na organsko snov je med 9,1 in 96,7 mg/kg (6,6-64,0 %), v ostanku pa med 9,6 in 63,3 mg/kg (6,9-34,6 %). Vzorci se razlikujejo po porazdelitvi Pb med posameznimi frakcijami. Najbolj izstopajo vzorci BCR 701 (referenčni material), MOL 10789, in MOL 10282, ki imajo največ svinca vezanega na Fe in Mn okside. Vzorec BCR 701 ima v tej frakciji 120,2 mg/kg (86,5 %), sledi ostanek in svinec, ki je vezan na organsko snov. Vzorec MOL 10789 ima v drugi frakciji 59,1 mg/kg (50,8 %), nato sledi Pb, vezan na organsko snov 34,3 mg/kg (29,5 %) in ostanek 23,0 mg/kg (19,7 %). MOL 10282 ima v drugi frakciji 42,4 mg/kg (54 %), nato sledi Pb, vezan na organsko snov 22,5 mg/kg (28,6 %) in ostanek 13,7 mg/kg (17,4 %).

Vzorec MOL 14275, ki je bil odvzet iz igrišča ob vrtcu, ter vzorca MOL 14707 in MOL 11027, ki sta bila odvzeta iz zelenih površin ob križišču, imajo največ svinca, vezanega na

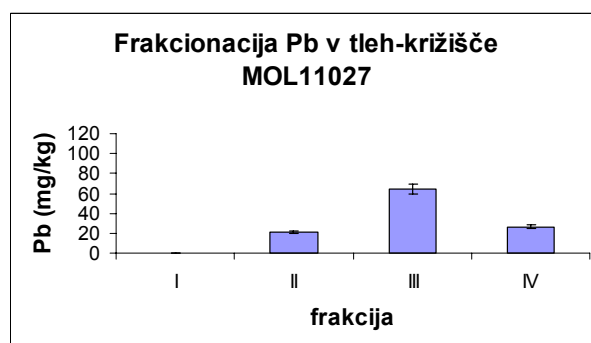
organsko snov 96,7 mg/kg (52,9 %), 93,5 mg/kg (64,0 %) in 64,2 mg/kg (57,4 %), sledi mu ostanek in Pb, vezan na Fe in Mn okside.

Rezultati koncentracije Pb (mg/kg) v posamezni talni frakciji za vse vzorce in ponovitve meritev, povprečje in standardna deviacija so predstavljeni v prilogi A.

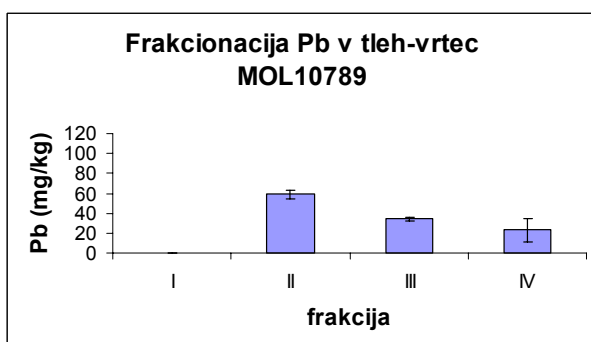
MOL 10282



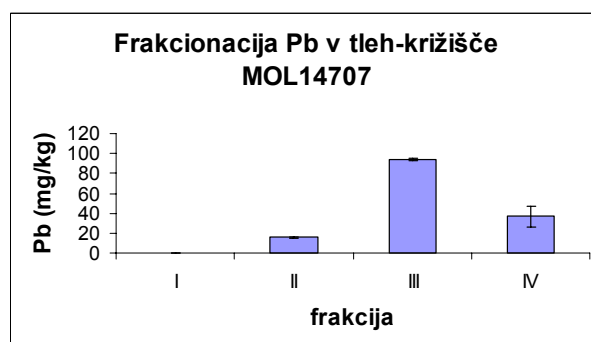
MOL 11027



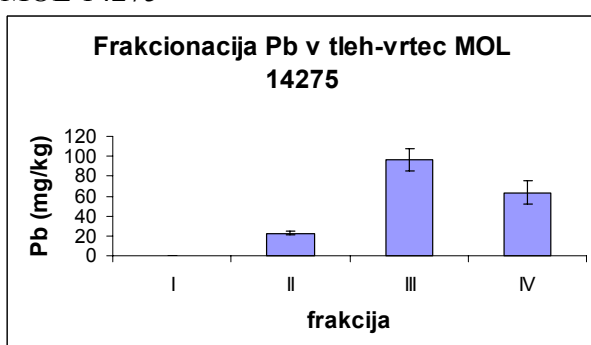
MOL 10789



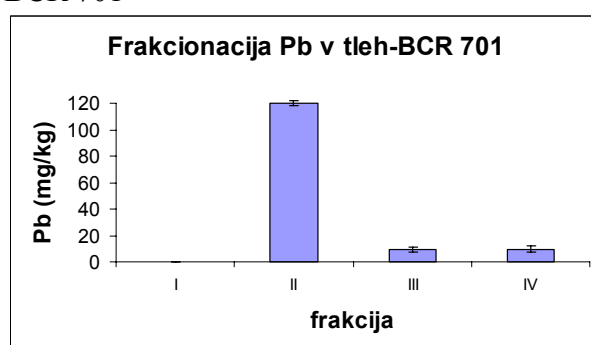
MOL 14707



MOL 14275



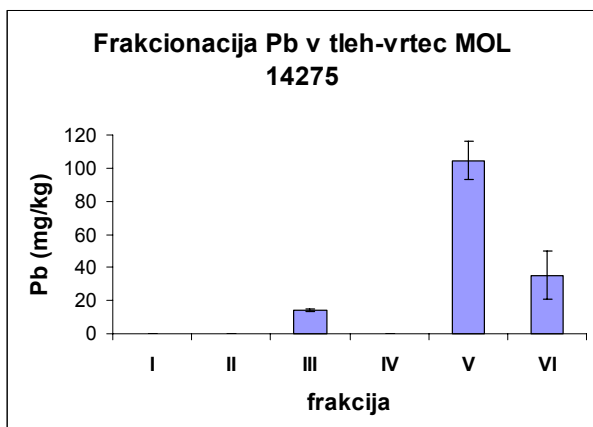
BCR 701



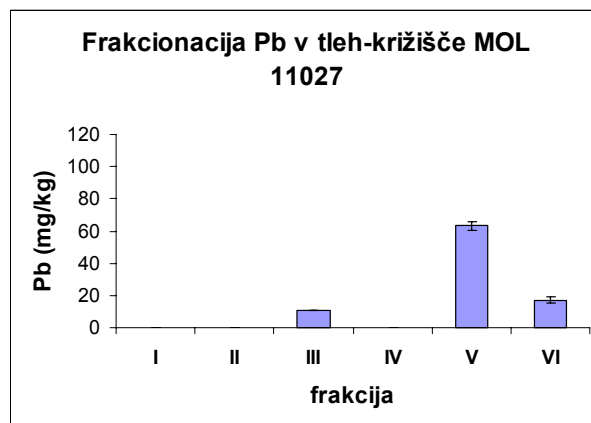
Slika 6: Koncentracija Pb (mg/kg) v posamezni frakciji tal (I-IV) za 5 talnih vzorcev in referenčni material BCR 701. Uporabljena štiristopenjska BCR sekvenčna ekstrakcija: I-Pb topen, izmenljivo vezan in vezan na karbonate; II-Pb vezan na Fe in Mn okside; III-Pb vezan na organsko snov; IV-Pb v ostanku. Podane so povprečne vrednosti treh ponovitev  $\pm$  standardna deviacija.

### 4.3 FRAKCIONACIJA SVINCA V TLEH PO ŠESTSTOPENJSKI TESSIER-JEVI SEKVENČNI EKSTRAKCIJI

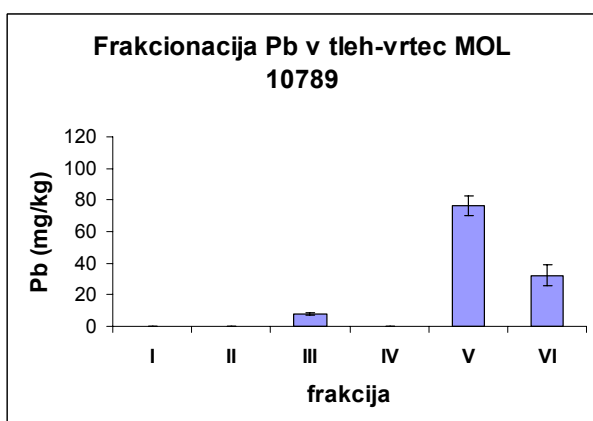
MOL 10282



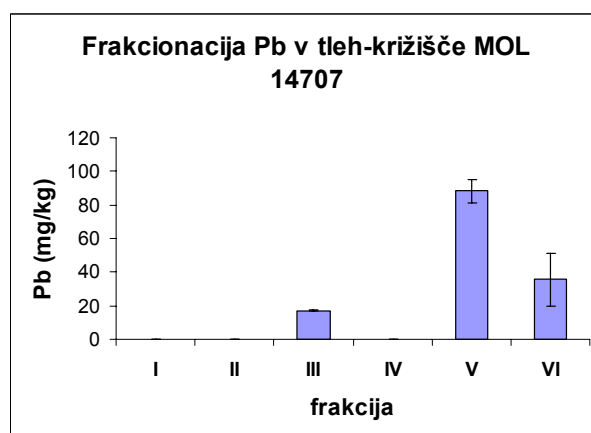
MOL 11027



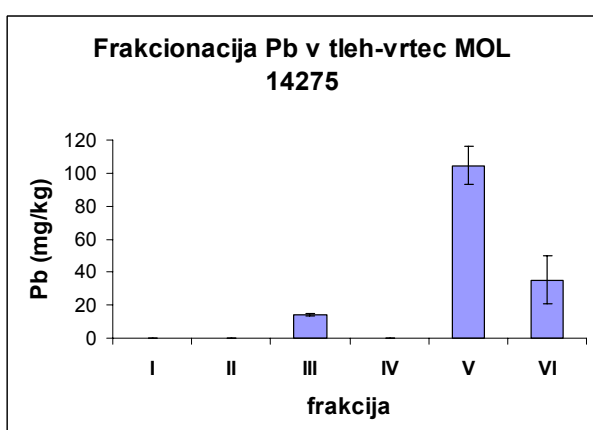
MOL 10789



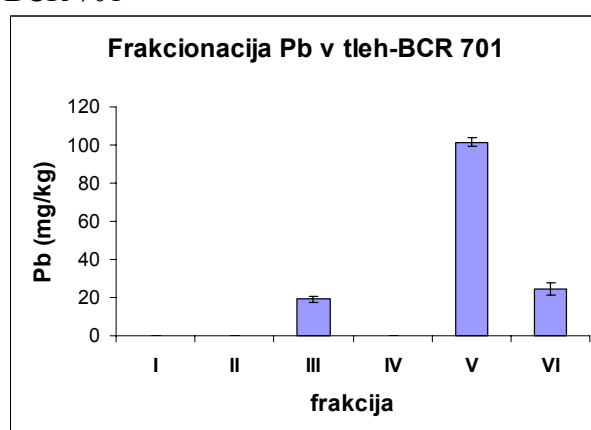
MOL 14707



MOL 14275



BCR 701



Slika 7: Koncentracija Pb (mg/kg) v posamezni frakciji tal (I-VI) za 5 talnih vzorcev in referenčni material BCR 701. Uporabljena šeststopenjska Tessier-jeva sekvenčna ekstrakcija: I-Pb topen; II-Pb izmenljivo vezan; III-Pb vezan na karbonate; IV-Pb vezan na Fe in Mn okside; V-Pb vezan na organsko snov; VI-Pb v ostanku. Podane so povprečne vrednosti treh ponovitev  $\pm$  standardna deviacija.

Tudi z metodo šeststopenjske Tessier-jeve sekvenčne ekstrakcije smo ugotovili porazdelitev svinca po posameznih talnih frakcijah. Rezultati frakcionacije svinca v talnih vzorcih (mg/kg) so prikazani na sliki 7.

Šeststopenjska shema je pokazala, da je največ svinca vezanega na organsko snov 59,5-107,5 mg/kg (62,6-70,5 %) in na karbonate 6,4-19,3 mg/kg (6,9-12,4 %) ali pa se je izločil v zadnji frakciji kot preostali Pb 17,0-35,7 mg/kg (17,1-27,7 %). Frakcije svinca, ki so neposredno dostopne rastlinam, to je topne v talni raztopini (I. frakcija) in izmenljive (II. frakcija), so pod mejo detekcije. Pod mejo detekcije pa je tudi frakcija Pb vezanega na Fe in Mn okside (IV. frakcija). Porazdelitev svinca med posameznimi frakcijami tal je različna. Najbolj izstopata vzorca MOL 14275 in BCR 701, ki imata največ svinca, vezanega na organsko snov, 107,5 mg/kg (67,9 %), in 101,4mg/kg (70,5 %), Pb vezanega v ostanku in vezanega na karbonate. Vzorec MOL 10282 ima najmanj svinca vezanega na karbonate 6,4 mg/kg (7,5 %), v vzorcu MOL 11027 pa je najmanj svinca v ostanku, 17,0 mg/kg (18,7 %).

Rezultati koncentracije Pb (mg/kg) v posamezni talni frakciji za vse vzorce in ponovitve meritev, povprečje in standardna deviacija so predstavljeni v prilogi B.

#### 4.4 USPEŠNOST SEKVENČNIH EKSTRAKCIJ

Uspešnosti sekvenčnih ekstraktov sledimo glede na vrednosti referenčnega materiala, v kolikor za posamezno vrsto ekstraktov obstaja. Za metodo štiristopenjske BCR sekvenčne ekstrakcije smo imeli na voljo referenčni material (BCR 701, Community Bureau of Reference). V preglednici navajamo primerjavo med deklariranimi in izmerjenimi vrednostmi za referenčni material (BCR 701, Community Bureau of Reference).

Preglednica 5: Primerjavo med deklariranimi in izmerjenimi vrednostmi za referenčni material (BCR 701, Community Bureau of Reference) v postopku štiristopenjske BCR sekvenčne ekstrakcije.

BCR 701	I	II	III	IV
<b>Deklarirana vrednost</b>	<b>3,18 ± 0,2</b>	<b>126 ± 3,0</b>	<b>9,3 ± 2,0</b>	<b>11 ± 6,0</b>
Izmerjena vrednost 1	<6	122,4	8,9	11,0
Izmerjena vrednost 2	<6	118,4	6,5	7,0
Izmerjena vrednost 3	<6	121,2	11,5	12,0
Izmerjena vrednost 4	<6	118,8	9,5	8,5
<b>povprečje</b>	<b>0,0</b>	<b>120,2</b>	<b>9,1</b>	<b>9,6</b>
<b>st. deviacija</b>	<b>0,0</b>	<b>1,9</b>	<b>2,1</b>	<b>2,3</b>

Rezultati kažejo, da je koncentracija Pb, ki je topen, izmenljivo vezan in vezan na karbonate pod mejo detekcije, ki je v laboratoriju CPVO postavljena višje, kot so deklarirane vrednosti za BCR 701, tako da teh vrednosti ne moremo vrednotiti. Koncentracija svinca, vezanega na Fe in Mn okside, je med 118,4 in 120 mg/kg, kar je nekoliko nižje, kot so deklarirane vrednosti za BCR 701 (126 ± 3,0). Koncentracije svinca, vezanega na organsko snov, so od 6,5 do 11,5 mg/kg, v ostanku pa med 7,0 in 12,0 mg/kg, kar je v mejah deklariranih vrednosti za BCR 701 (preglednica 5).



Uspešnost ekstrakcije kaže tudi izračun »izkoristka«, ki ga izračunamo kot količnik med vsoto koncentracij kovine v posameznih frakcijah in skupno količino kovine v vzorcu, določeno z ločeno analizo z zlatotopko. Ponavadi ga podajamo v odstotkih. V preglednici podajamo izkoristke za obe sekvenčni shemi in vse obravnavane vzorce.

Preglednica 6: Izkoristki frakcionacije svinca (%) v petih talnih vzorcih in referenčnem materialu v štiristopenjski BCR in šestopenjski Tessier-jevi sekvenčni ekstrakciji.

Vzorec	Raba tal	Izkoristek BCR (%)	Izkoristek Tessier (%)
MOL 10282	vrtec	76,3	83,8
MOL 10789	vrtec	94,9	95,2
MOL 14275	vrtec	95,3	80,3
MOL 11027	križišče	94,7	77,0
MOL 14707	križišče	91,9	88,8
BCR 701		97,9	101,3

Seštevki posameznih frakcij sekvenčnih ekstrakcij so večinoma manjši kot skupne vsebnosti, določene po razkroju z zlatotopko. Izkoristki frakcionacije svinca v štiristopenjski BCR sekvenčni ekstrakciji variirajo v razponu od 76,3 do 94,9 %. V šeststopenjski Tessier-jevi sekvenčni ekstrakciji pa od 77,0 do 101,3 %.

#### 4.5 SPREMEMBE pH VREDNOSTI V VZORCIH MED POTEKOM SEKVENČNIH EKSTRAKCIJ

Vrednosti pH ekstrakcijske raztopine pred in po končani ekstrakciji talnega vzorca po frakcijah so za štiristopenjsko BCR sekvenčno shemo prikazane na sliki 8 in v prilogi D (vrednosti posameznih meritev, povprečje in standardna deviacija), za Tessier-jevo sekvenčno shemo pa na sliki 9 in v prilogi E (vrednosti posameznih meritev, povprečje in standardna deviacija).

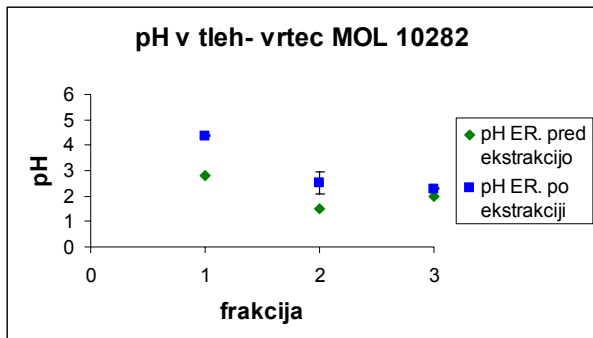
pH smo merili samo po prvih treh frakcijah za BCR shemo oziroma po prvih petih frakcijah za Tessier-jevo shemo, ker je zadnja frakcija pri obeh shemah zlatotopka, mešanica koncentrirane dušikove in solne kisline. Razlika med pH vrednostjo pred in po ekstrakciji kaže vpliv talnega vzorca na pH ekstrakcijske raztopine.

Vrednost pH ekstrakcijske raztopine za I. frakcijo BCR je bila pred ekstrakcijo talnega vzorca 2,8, po ekstrakciji talnih vzorcev pa med 3,7 in 5,0.

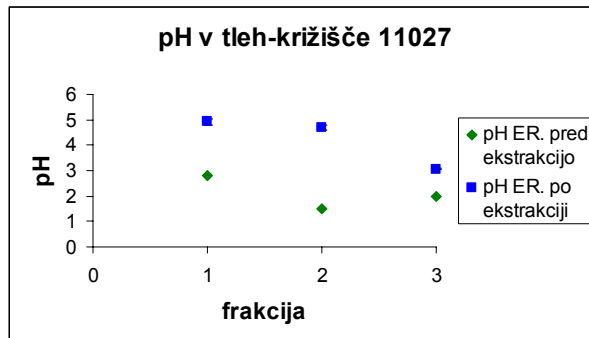
Vrednost pH ekstrakcijske raztopine za II. frakcijo BCR je bila pred ekstrakcijo talnega vzorca 1,5, po ekstrakciji talnih vzorcev pa med 1,4 in 4,7. V tej frakciji najbolj izstopa vzorec BCR 701, ki ima za razliko od ostalih vzorcev pH ekstrakcijske raztopine po ekstrakciji talnega vzorca nižji kot pred ekstrakcijo, in sicer 1,4. Vsi ostali vzorci imajo višji pH, predvsem vzorci MOL 10789, MOL 114707 in MOL 11027, in sicer od 4,6 do 4,7.

Vrednost pH ekstrakcijske raztopine za III. frakcijo BCR je bila pred ekstrakcijo talnega vzorca 2,0 po ekstrakciji talnih vzorcev pa med 2,2 in 3,1.

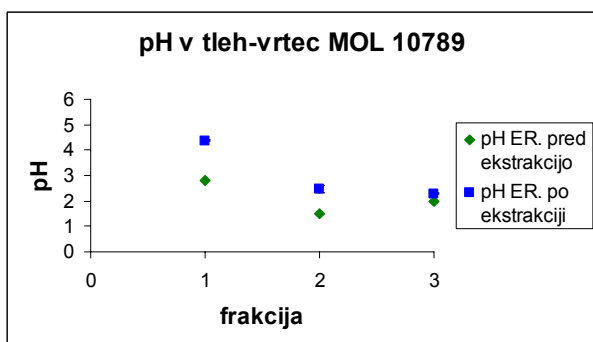
MOL 10282



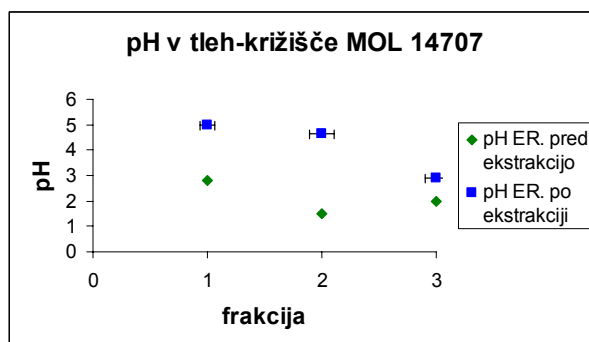
MOL 11027



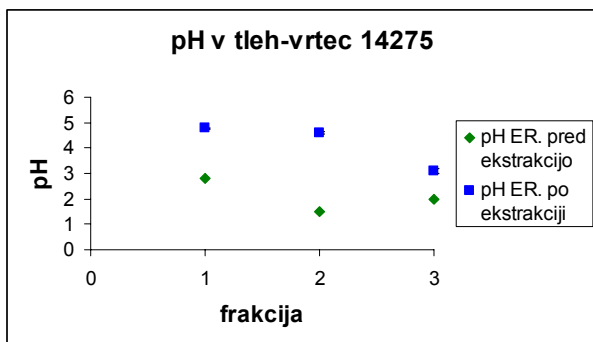
MOL 10789



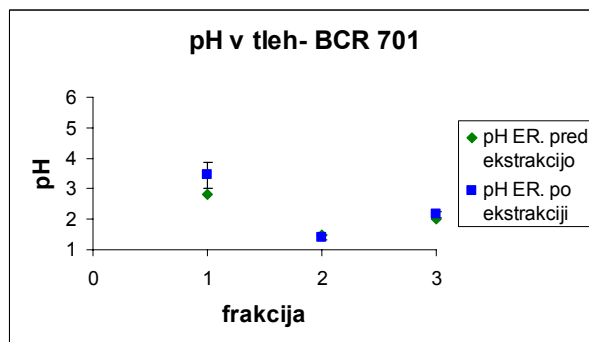
MOL 14707



MOL 14275



BCR 701



Slika 8: pH v posamezni frakciji tal (I-IV) za 5 talnih vzorcev in referenčni material BCR 701. Uporabljena štirstopenjska BCR sekvenčna ekstrakcija: I-topen, izmenljivo vezan in vezan na karbonate; II-vezan na Fe in Mn okside; III-vezan na organsko snov. Podane so povprečne vrednosti treh ponovitev  $\pm$  standardna deviacija.

Vrednost pH ekstrakcijske raztopine za I. frakcijo Tessier-jeve sekvenčne sheme je bila pred ekstrakcijo talnega vzorca 7,0, po ekstrakciji talnih vzorcev pa med 7,2 in 7,5.

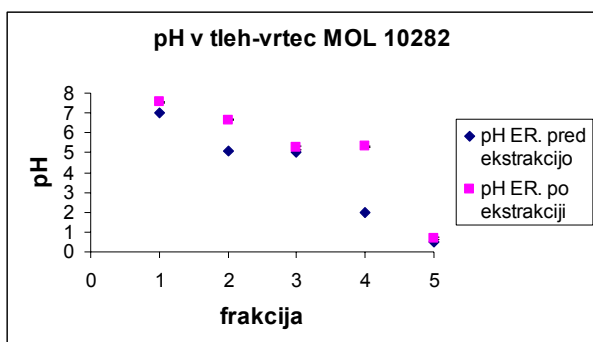
V II. frakciji je bil začetni pH ekstrakcijske raztopine 5,1, po ekstrakciji pa se je zvišal in je bil v razponu od 6,6 do 7,0.

V III. frakciji je bil pH ekstrakcijske raztopine pred ekstrakcijo 5,0, po ekstrakciji pa med 5,3 in 5,4.

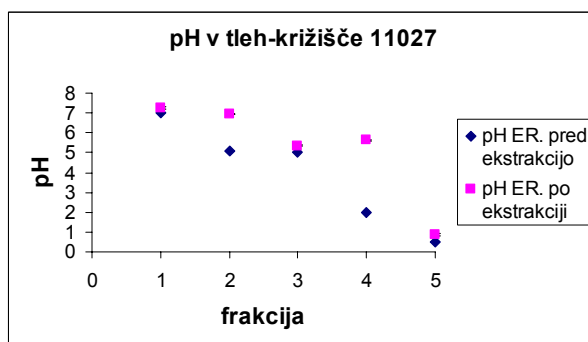
V IV. frakciji, ki zajema težke kovine, vezane na Fe in Mn okside, je bil začetni pH 2,0. Po ekstrakciji talnih vzorcev MOL je bil v razponu od 5,3 do 5,7, izjema v tej frakciji je referenčni material, kateremu se je pH vrednost najmanj povečala, in sicer na 3,5.

V V. frakciji pa je bila pH vrednost pred ekstrakcijo 0,5, po ekstrakciji talnih vzorcev pa so vrednosti pH ekstrakcijske raztopine variirale v razponu med 0,6 in 0,9.

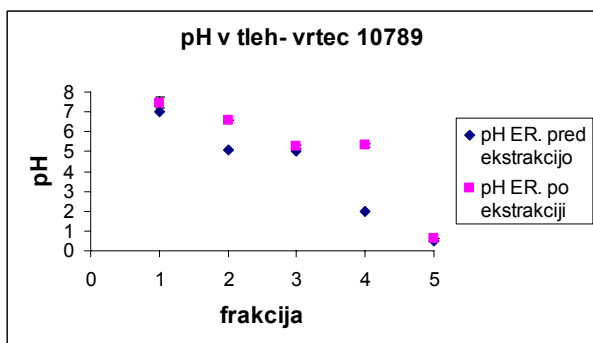
MOL 10282



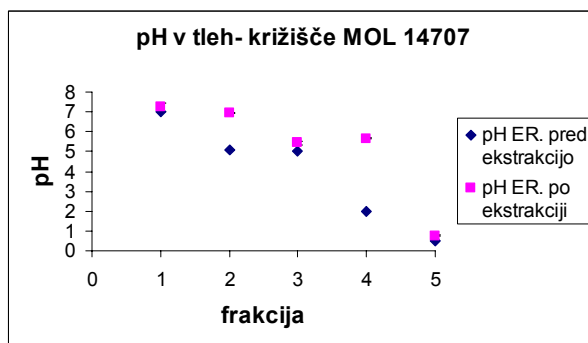
MOL 11027



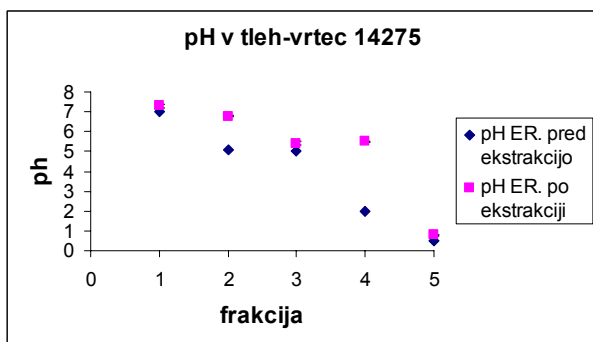
MOL 10789



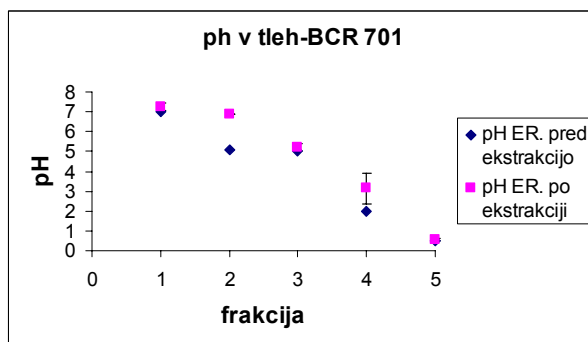
MOL 14707



MOL 14275



BCR 701



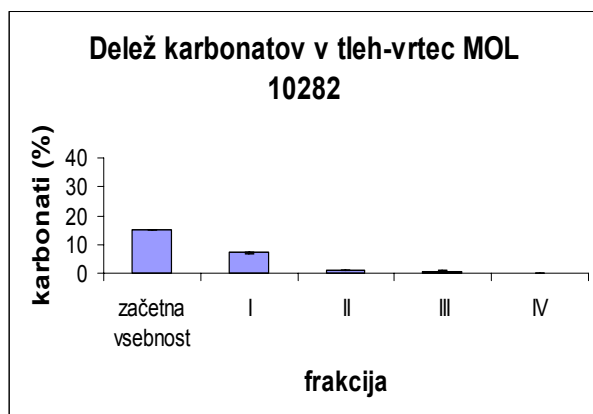
Slika 9: pH v posamezni frakciji tal (I-VI) za 5 talnih vzorcev in referenčni material BCR 701. Uporabljena šeststopenjska Tessier-jeva sekvenčna ekstrakcija: I-topen; II-izmenljivo vezan; III-vezan na karbonate; IV-vezan na Fe in Mn okside; V-vezan na organsko snov. Za vrednosti pH ekstrakcijske raztopine po ekstrakciji so podane povprečne vrednosti treh ponovitev  $\pm$  standardna deviacija.

#### 4.6 VSEBNOST KARBONATOV V VZORCIH MED POTEKOM SEKVENČNIH EKSTRAKCIJ

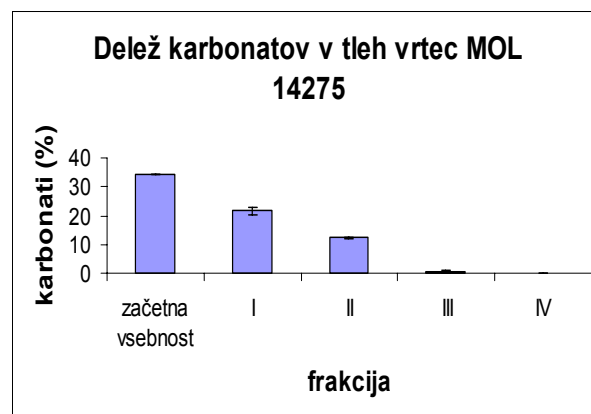
Merili smo vsebnost karbonatov v talnih vzorcih (MOL 10282 in MOL 14275) po končani posamezni ekstrakciji BCR (slika 10) oziroma Tessierjeve (slika 11) sekvenčne sheme. V prvem stolpcu je prikazana začetna vsebnost karbonatov v vzorcu. Rezultati deležev karbonatov (%), povprečje, standardna deviacija v posamezni talni frakciji za vsak talni vzorec so predstavljeni v prilogi C.

Začetna vsebnost karbonatov v tleh za vzorec MOL 10282 je 15,1 % in za vzorec MOL 14275 34,5 % (preglednica 2).

MOL 10282



MOL 14275



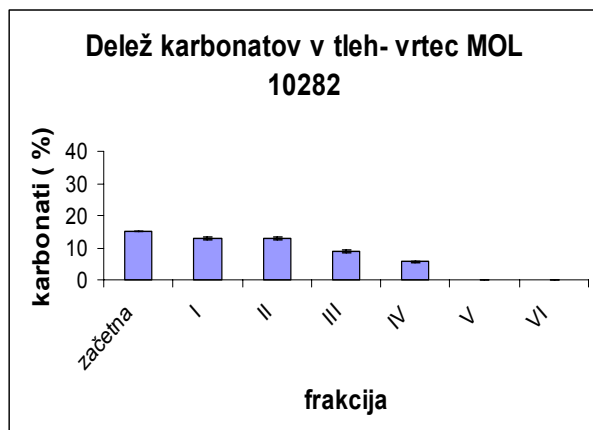
Slika 10: Karbonati (%) v posamezni frakciji tal (I-IV) za 2 talna vzorca. Uporabljena štiristopenjska BCR sekvenčna ekstrakcija: začetna vsebnost, I-topen, izmenljivo vezan in vezan na karbonate; II-vezan na Fe in Mn okside; III-vezan na organsko snov; IV-ostanek. Podane so povprečne vrednosti treh ponovitev  $\pm$  standardna deviacija.

Preglednica 7: Delež karbonatov v ostanku vzorca po izvedeni posamezni ekstrakciji BCR sekvenčne sheme preračunano glede na začetno vsebnost karbonatov v vzorcu.

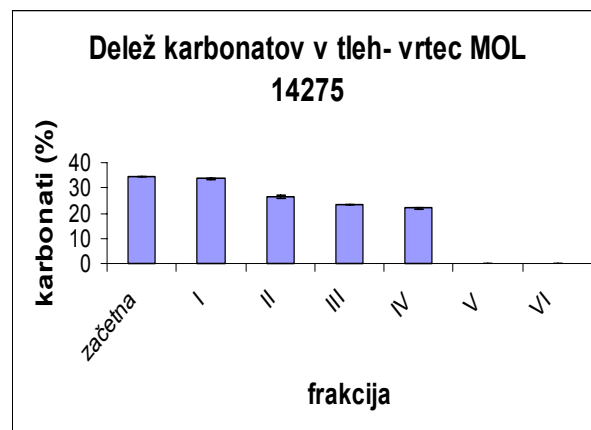
	BCR sekvenčna ekstrakcija				
	začetna	I	II	III	IV
VRTEC MOL 10282	100	47,5	6,8	3,7	0,00
VRTEC MOL 14275	100	62,5	35,6	1,6	0,00

V BCR sekvenčni shemi je bilo po I. frakciji (topne, izmenljive in karbonatno vezane kovine) v vzorcu MOL 10282 7,2 % karbonatov, v vzorcu MOL 14275 pa 21,6 % karbonatov. Po II. frakciji (vezava kovin na Fe in Mn okside) je bilo v vzorcu MOL 10282 1,0 %, v vzorcu MOL 14275 pa 12,3 %. Po III. in IV. frakciji je bil delež karbonatov pod 1 %, kar je meja določljivosti karbonatov z uporabljenno metodo. Deleži karbonatov v ostanku vzorca od začetne vsebnosti karbonatov so v preglednici 7.

MOL 10282



MOL 14275



Slika 11: Karbonati (%) v posamezni frakciji tal (I-VI) za 2 talna vzorca. Uporabljen šeststopenjska Tessierjeva sekvenčna ekstrakcija: začetna vsebnost, I-topen; II-izmenljivo vezan; III-vezan na karbonate; IV-vezan na Fe in Mn okside; V-vezan na organsko snov; VI-ostanek. Podane so povprečne vrednosti treh ponovitev  $\pm$  standardna deviacija.

Preglednica 8: Delež karbonatov v ostanku vzorca po izvedeni posamezni ekstrakciji Tessierjeve sekvenčne sheme preračunano glede na začetno vsebnost karbonatov v vzorcu.

Sekvenčna ekstrakcija po Tessierju							
	začetna	I	II	III	IV	V	VI
VRTEC MOL 10282	100	86,3	84,4	59,5	37,5	0,07	0,00
VRTEC MOL 14275	100	98	77,1	67,8	63,51	0,03	0,00

Po šeststopenjski Tessierjevi sekvenčni shemi po I. frakciji (topne kovine) je bilo v vzorcu MOL 10282 13,3 % karbonatov, v vzorcu MOL 14275 pa 33,8 % karbonatov. Po II. frakciji (izmenljivo vezane kovine) je bilo v vzorcu MOL 10282 12,7 %, v vzorcu MOL 14275 pa 26,6 %. Po III. frakciji (karbonatno vezane kovine) je bilo v vzorcu MOL 10282 9,0 %, v vzorcu MOL 14275 pa 23,4 %. Po IV. frakciji (vezava na Fe in Mn okside) je bilo v vzorcu MOL 10282 5,7 %, v vzorcu MOL 14275 pa 21,9 % karbonatov. Po V. in VI. frakciji je bil delež karbonatov pod 1 %, kar je meja določljivosti karbonatov z uporabljenimi metodami. Deleži karbonatov v ostanku vzorca od začetne vsebnosti karbonatov so prikazani v preglednici 8.

## 5 RAZPRAVA

### 5.1 PEDOLOŠKE LASTNOSTI, SKUPNA VSEBNOST Pb IN FRAKCIONACIJA Pb

Podobnost pedoloških lastnosti vzorcev MOL lahko pripišemo enaki vrsti tal in podobni rabi tal. Tla, kjer so bili vzorci odvzeti, sicer uvrščamo med urbana tla, po izvoru pa bi jih lahko uvrstili med evtrična rjava tla na produ, kar se vidi v velikem deležu bazičnih kationov od 83,8 do 91,1 % in pH vrednosti od 7,0 do 7,3 (preglednica 4). pH je pomemben dejavnik, ki vpliva na vezavo kovin v tleh. Rieuwerts in sodelavci (1998) so ugotovili, da topnost kovin narašča pri nižjem pH in adsorpcijske reakcije postanejo pomembnejše od oboritvenih in kompleksacijskih reakcij. Tudi adsorpcija se proporcionalno znižuje z nižanjem pH, ker kationi težkih kovin tekmujejo s protoni ( $H^+$ ) za adsorpcijska mesta na talnih koloidih. Reakcije obarjanja in kompleksacije Pb prevladujejo pri pH tal med 6 in 7 (Rieuwerts in sod., 1998).

Zaradi pokritosti tal s travno rušo (zelenice na igriščih in ob cestah), je vsebnost organske snovi velika od 8,4 do 10,4 %. Organska snov v tleh pomembno prispeva k vezavi kovin v tleh, zadržuje kovine s kompleksacijo, adsorpcijo in izmenjavo ionov. Ko pH v tleh narašča, se karboksilne skupine humusa ionizirajo in tvorijo stabilne komplekse kovin. Svinec se ponavadi zadrži v zgornji plasti tal, kljub temu pa se lahko velika količina Pb, vezanega na topen del organske snovi tal, izpira skozi talni profil (Rieuwerts in sod., 1998).

Vzorci se razlikujejo predvsem po deležu karbonatov, ki so v vzorcih MOL 10282 15,1 %, MOL 10789 10,9 %, MOL 14275 34,5 %, MOL 11027 32,5 % in MOL 14707 33,2 %. Razlika je verjetno posledica variabilnosti v globini tal. Ker je bilo vzorčenje v vseh primerih na globini 0-10 cm, smo pri plitvejših tleh lahko zajeli tudi večji delež mineralnega dela tal z večjim deležem karbonatov, ker je matična podlaga karbonatni prod reke Save.

Skupna količina Pb (stopnja onesnaženosti) tudi lahko vpliva na rezultate sekvenčnih ekstraktov. Skupna vsebnost Pb je bila v vzorcih, vključenih v našo raziskavo, od 103,0 do 191,8 mg/kg, kar pomeni, da so tla srednje onesnažena s Pb (med mejno in opozorilno vrednostjo za Pb glede na slovensko zakonodajo - Uredba..., 1996). Zaradi enakega izvora Pb (promet) in sorazmerno majhnih razlik v skupni vsebnosti Pb nismo pričakovali posebnega vpliva vsebnosti Pb na razporejanje po frakcijah.

Glede na rezultate šeststopenjske Tessier-jeve sheme je svinec v največji meri zastopan v frakciji, vezani na organsko snov (62,6-70,5 %) in v ostanku (17,1-27,7 %), v manjši meri pa tudi v karbonatni frakciji (6,9-12,4 %) (preglednica 9). BCR sekvenčna shema pa le delno potrjuje prevladujočo vezavo na organsko snov. Za vzorce z večjim deležem karbonatov (MOL 14275, MOL 11027, MOL 14707) to drži, na organsko snov je bilo vezanega od 52,9 do 64 % Pb, v vzorcih z manjšim deležem karbonatov (BCR, MOL 10282 in MOL 10789) pa je bilo na organsko snov vezanega od 6,6 do 29,5 %. Pb. O močni vezavi svinca na organsko snov so pisali že Kabata-Pendias in Pendias (1992) na temelju številnih raziskav.

Velik delež Pb ostane v talnem vzorcu po izvedenih petih (Tessier-jeva shema) oziroma treh (BCR shema) frakcijah in jih določimo po razkroju vzorca z zlatotopko (ostanek). V ostanku smo po Tessierjevi shemi določili od 17,1 do 27,7 % Pb, po BCR shemi pa od 6,9 do 34,6% Pb.

Li in Thornton (2001) sta poročala o prevladujoči vezavi svinca na karbonate. V naši raziskavi tega nismo potrdili. S Tessier-jevo shemo smo določili od 6,9 do 12,4 % Pb, vezanega na karbonate, medtem ko z BCR shemo nismo določili karbonatno vezanega Pb.

Chlopecka in sodelavci (1996) in Ramos in sodelavci (1994) sta poročala, da je bil svinec vezan predvsem na Fe in Mn okside in organsko snov tal, kar se je delno potrdilo pri štiristopenjski BCR metodi za vzorce z manjšim deležem karbonatov. Pri teh je bilo tako vezanega Pb od 50,8 do 86,5 %. V nasprotju s temi ugotovitvami pa je bil za vse talne vzorce delež frakcije svinca, vezanega na Fe in Mn okside, v šeststopenjski ekstrakciji pod mejo detekcije.

Deleži svinca v oblikah, ki so neposredno dostopne rastlinam, to je topne v talni raztopini in izmenljive, so v našem primeru pod mejo detekcije. Tudi Chlopecka in sodelavci (1996) in Ramos in sodelavci (1994) ter Maiz in sodelavci (2000) poročajo o podobnih nizkih vrednostih (v talni raztopini so določili majhen delež celotnega Pb (0,05-0,57 % Pb)).

## 5.2 PRIMERJAVA BCR IN TESSIER-JEVE SEKVENČNE EKSTRAKCIJE

V diplomskem delu smo primerjali dve metodi sekvenčnih ekstrakcij za ugotavljanje frakcionacije svinca v tleh, in sicer štiristopenjsko BCR in šeststopenjsko Tessier-jevo sekvenčno ekstrakcijo, ki se sorazmerno pogosto uporabljata v okoljskih študijah. Največ se je uporabljala Tessier-jeva shema, ki pa jo v zadnjem času vse bolj zamenjuje BCR shema, ki je krajša, enostavnejša in standardizirana. Zanje so na voljo komercialni referenčni materiali.

Razlike med obema metodama so različno število zaporednih frakcij, vrsta in zaporedje uporabljenih reagentov (preglednica 3 in 4), čas ekstrahiranja posamezne frakcije in razmerje med maso talnega vzorca in volumnom ekstrakcijske raztopine. BCR sekvenčna ekstrakcija je manj selektivna, saj v I. frakciji združuje v vodi topne, izmenljive kovine in kovine vezane na karbonate, torej prve tri frakcije Tessier-jeve sekvenčne sheme. II. frakcija BCR naj bi ustrezala IV. frakciji Tessier-jeve sheme in III. frakcija BCR naj bi ustrezala V. frakciji Tessier-jeve sheme. Ostanek (IV. frakcija BCR in VI. frakcija Tessier-jeva shema) je pri obeh določen z razkrojem ostanka z zlatotopko. Primerjava BCR in Tessier-jeve sekvenčne sheme (vsebnost Pb in delež Pb) za posamezne talne frakcije je prikazana v preglednici 9.

Preglednica 9: Vsebnost Pb (mg/kg) in delež svinca v posameznih frakcijah (%) od skupne količine Pb v vzorcu (%) po postopku šeststopenjske Tessier-jeve in štiristopenjske BCR sekvenčne ekstrakcije.

SEKVENČNA EKSTRAKCIJA PO TESSIERJU										
Vzorec	Raba tal	Topen v talni raztopini	Izmenljivi	Vežan na karbonate		Vežan na Fe in Mn okside	Vežan na organsko snov		Preostali Pb	
				mg/kg	%		mg/kg	%	mg/kg	%
MOL10282	vrtec	0,0	0,0	6,4	7,5	0,0	59,5	68,9	20,3	23,6
MOL10789	vrtec	0,0	0,0	8,0	6,9	0,0	76,4	65,4	32,3	27,7
MOL14275	vrtec	0,0	0,0	14,2	9,2	0,0	107,5	67,9	35,3	22,9
MOL11027	križišče	0,0	0,0	10,7	11,8	0,0	63,1	69,5	17,0	18,7
MOL14707	križišče	0,0	0,0	17,1	12,1	0,0	88,4	62,6	35,7	25,3
BCR 701		0,0	0,0	19,3	12,4	0,0	101,4	70,5	24,7	17,1
BCR SEKVENČNA EKSTRAKCIJA										
Vzorec	Raba tal	Topen, izmenljiv, vežan na karbonate			Vežan na Fe in Mn okside		Vežan na organsko snov		Preostali Pb	
		mg/kg oz.%			mg/kg	%	mg/kg	%	mg/kg	%
MOL10282	vrtec	0,0			42,4	54,0	22,5	28,6	13,7	17,4
MOL10789	vrtec	0,0			59,1	50,8	34,3	29,5	23,0	19,7
MOL14275	vrtec	0,0			22,8	12,5	96,7	52,9	63,3	34,6
MOL11027	križišče	0,0			21,3	19,1	64,2	57,4	26,3	23,5
MOL14707	križišče	0,0			15,6	10,7	93,5	64	37,0	25,3
BCR 701		0,0			120,2	86,5	9,1	6,6	9,6	6,9

Največje razlike so se pokazale v deležu Pb, vežanega na karbonate. S Tessier-jevo shemo smo jih določili od 6,9 do 12,4 %, medtem ko jih z BCR shemo nismo določili.

Velike razlike so se pokazale tudi pri vezavi na Fe in Mn okside. Tessier-jeva shema jih ne določi, BCR shema pa pokaže velike razlike med vzorci glede na vsebnost karbonatov. Najbolj so v tej frakciji izstopali vzorci z nižjim deležem karbonatov: BCR 701 (referenčni material) je imel delež svinca 86,5 %, vzorec MOL 10282 je imel delež svinca 54,0 % in vzorec MOL 10789 50,8 %. Ostali vzorci (MOL 14275, MOL 11027 in MOL 14707) so imeli v tej frakciji bistveno nižjo vsebnost svinca, in sicer od 10,7 % do 19,1 %.

Pri vzorcih z večjim deležem karbonatov je bilo ujemanje v vsebnosti organske snovi dobro. BCR shema jih je določila od 52,9 do 64,0 %, Tessier-jeva pa od 62,6 do 69,5 %. V nasprotju so se za vzorce z manjšim deležem karbonatov pokazale razlike med Tessier-jevo in BCR shemo. Tessier-jeva shema jih je določila od 65,4 do 70,5 %, BCR shema pa le od 6,6 do 29,5 %.

Predvidevali smo, da anomalijo pri določevanju razporejanja Pb med frakcijo Fe in Mn oksidi in frakcijo organska snov vplivajo karbonati v vzorcu. Predvidevali smo, da se karbonati v tleh ne raztopijo v celoti v I. frakciji BCR sheme oziroma III. frakciji Tessier-jeve sheme, ki določata karbonatno vežan Pb, ter da lahko visok delež karbonatov v ostanku talnega vzorca dvigne pH ekstrakcijske raztopine v II. frakciji BCR oz. IV. frakciji



Tessier-jeve sheme, kar povzroči slabšo ekstrakcijo Pb iz Fe in Mn oksidov, posledično pa se poveča delež Pb v frakcijah, ki sledijo.

Naša predvidevanja smo potrdili z meritvijo pH v vsaki ekstrakcijski raztopini po izvedeni ekstrakciji s talnim vzorcem. Potek spremembe pH vrednosti in primerjavo z začetno pH vrednostjo čiste ekstrakcijske raztopine kažeta sliki 8 in 9, ki sta potrdili naša pričakovanja.

Če primerjamo med sabo vzorce, ki imajo visok delež karbonatov, in sicer vzorec MOL 14275 (34,5 % karbonatov), MOL 11027 (32,5 %) in MOL 14707 (33,2 %), lahko vidimo, da je pri BCR shemi pH vrednost ekstrakcijske raztopine po ekstrakciji talnega vzorca v I. fazi ekstrahiranja med 3,7 in 5,0, medtem ko je bila vrednost ekstrakcijske raztopine pred ekstrakcijo 2,8. V II. frakciji je bil pH ekstrakcijske raztopine pred ekstrakcijo 1,5, po ekstrakciji talnih vzorcev pa je pH vrednost bila med 4,6 in 4,7. V tej frakciji najbolj izstopa referenčni material BCR 701, ki je vplival na padec pH ekstrakcijske raztopine po II. frakciji iz 1,5 na 1,4.

Domnevo smo želeli preveriti tudi z meritvijo karbonatov v ostanku talnega vzorca po vsaki izvedeni ekstrakciji, zato smo izbrali en vzorec z manjšim deležem karbonatov in en vzorec z velikim deležem karbonatov. Izbor samo dveh vzorcev za testiranje ostankov karbonatov je posledica dolgotrajnih postopkov, saj z meritvijo karbonatov uničimo talni vzorec in je potrebno vsakič izvesti sekvenčno shemo od začetka.

Pri štiristopenjski BCR sekvenčni ekstrakciji se v prvi frakciji, ki naj bi zajemala tudi karbonatno vezane kovine, karbonati ne raztopijo v celoti in jih zasledimo tudi še v drugi frakciji, medtem ko jih v tretji frakciji skorajda ni več oz. so pod 1 %. V vzorcu MOL 10282, ki je imel na začetku delež karbonatov 15,1 %, je ostalo po prvi frakciji štiristopenjske BCR ekstrakcije še 7,2 %, v drugi fazi ekstrahiranja 1,0 %, v tretji fazi pod 1 % karbonatov. V vzorcu MOL 14275, ki je imel na začetku 34,5 % karbonatov, je ostalo po prvi fazi ekstrahiranja še 21,6 %, po drugi frakciji 12,3 % in po tretji frakciji pod 1 % karbonatov.

Kot kažejo naši rezultati, lahko predvidevamo, da podobno velja tudi za Tessier-jevo shemo, po kateri sploh nismo določili merljivega deleža Pb v frakciji vezave na Fe in Mn okside.

### 5.3 USPEŠNOST EKSTRAKCIJ

Uspešnosti sekvenčnih ekstrakcij smo sledili glede na vrednosti referenčnega materiala, v kolikor je za posamezno vrsto ekstrakcij obstajal. Za metodo štiristopenjske BCR sekvenčne ekstrakcije smo imeli na voljo referenčni material (BCR 701, Community Bureau of Reference). Odstopanja so bila dokaj majhna (preglednica 5), v prvi frakciji so bile naše izmerjene vrednosti pod mejo detekcije (6 mg/kg), medtem ko so bile deklarirane vrednosti v povprečju  $3,18 \pm 0,2$ . V vseh ostalih frakcijah ni velikih odstopanj in so naše izmerjene vrednosti primerljive deklariranim vrednostim, kar lahko potrди točnost našega eksperimentalnega dela.

Uspešnost ekstrakcije smo izračunali tudi na podlagi »izkoristka« kot količnika med vsoto koncentracij kovine v posameznih frakcijah in skupno količino kovine v vzorcu, določeno z ločeno analizo z zlatotopko (preglednica 6). Seštevki posameznih frakcij sekvenčnih ekstraktov za Pb so bili v obeh metodah večinoma manjši kot skupne vsebnosti, določene pri razkroju z zlatotopko. Izkoristki frakcionacije svinca so za obe metodi podobni. V štiristopenjski BCR sekvenčni ekstrakciji so variirali v razponu od 76,3 do 94,7 %. V šeststopenjski Tessier-jevi sekvenčni ekstrakciji pa od 77,0 do 101,3 %. Nižje izkoristke pod 100 % lahko pripišemo napakam meritev ter izgubam materiala med samim potekom sekvenčnih ekstraktov, ki so posledica prenosov ekstrakcijskih raztopin med postopkom ekstrakcije (v posode za shranjevanje). Izkoristke nad 100 % pa pripišemo predvsem napakam meritev.

#### 5.4 SKLEPI

Na primeru petih vzorcev urbanih tal iz Mestne občine Ljubljana (MOL) z različno vsebnostjo karbonatov in enem referenčnem materialu smo primerjali štiristopenjsko BCR in šeststopenjsko Tessier-jevo sekvenčno ekstrakcijo. Ugotovili smo, da vrsta sekvenčne sheme bistveno vpliva na porazdelitev kovin po posameznih frakcijah.

Največje razlike so se pokazale pri določevanju karbonatno vezanega Pb ter Pb, vezanega na Fe in Mn okside in organsko snov. Z BCR metodo nismo določili Pb v I. frakciji (topne, izmenljive in karbonatno vezane), medtem ko šeststopenjska Tessier-jeva ekstrakcija določi od 6,9 do 12,4 % Pb vezanega na karbonate. Po prvi frakciji ostane v vzorcu še vedno velik delež karbonatov, ki vplivajo na uspešnost druge faze ekstrahiranja. pH v drugi fazi ekstrahiranja naj bi bil nizek (1,5), vendar ga prisotni karbonati dvignejo do 4,7, kar zmanjša ekstrakcijsko moč hidroksilaminhidroklorida, ki ga uporabljamo v drugi frakciji. Posledično je spremenjen tudi delež Pb v III. (organsko vezan Pb) in IV. frakciji (ostanek).

Tessier-jeva sekvenčna shema je bolj natančna, saj loči topne kovine v talni raztopini, izmenljive kovine in kovine, vezane na karbonate. Tudi pri Tessier-jevi shemi ostanejo karbonati v vzorcu po končani frakciji za določitev karbonatno vezanih kovin in vplivajo na pH ekstrakcijske raztopine v naslednji frakciji (vezava na Fe in Mn okside). Morda je ravno previsok pH v tej frakciji vzrok, da nismo v nobenem vzorcu določili Pb, vezanega na Fe in Mn okside.

## 6 POVZETEK

Zaradi človekovih dejavnosti (industrija, metalurška dejavnost, urbanizem, kmetijstvo, odlaganje odpadkov) je vsebnost težkih kovin v tleh lahko povečana. Tla, onesnažena s težkimi kovinami, predstavljajo velik problem, saj lahko težke kovine prehajajo v prehranjevalno verigo in tako postanejo nevarne za zdravje ljudi in živali, zato je potrebno vedeti, kaj se z njimi dogaja v tleh ter kateri procesi in lastnosti tal vplivajo na to.

Kemijska oblika, v kateri se težke kovine nahajajo v tleh, je bistvena, saj določa biodosegljivost in mobilnost težkih kovin v tleh. Poznavanje skupne vsebnosti težkih kovin v tleh je pomemben kriterij, a ne zadosten za oceno dostopnosti in mobilnosti težkih kovin v tleh. Več informacij dobimo z ugotavljanjem frakcionacije težkih kovin v tleh, za kar se uporabljajo sekvenčne ekstrakcije. V literaturi najdemo veliko število različnih protokolov sekvenčnih ekstraktij, ki največkrat temeljijo na metodi, ki jo je razvil Tessier s sodelavci (1979). Ta določa v prvi frakciji topne oblike težkih kovin v talni raztopini, v drugi frakciji težke kovine, izmenljive iz talnih koloidov, v tretji frakciji težke kovine, vezane na karbonate, v četrti težke kovine, vezane na Fe in Mn okside, v peti frakciji težke kovine, vezane na organsko snov in v šesti ostanek. V zadnjem času pa se vse bolj uveljavlja modificirana štiristopenjska BCR sekvenčna ekstrakcija, ki je krajša, enostavnejša in ima na razpolago komercialni referenčni material, kar omogoča sledenje točnosti izvajanja postopkov. BCR določa v prvi frakciji topne oblike težkih kovin v talni raztopini, težke kovine, izmenljive iz talnih koloidov in težke kovine, vezane na karbonate, v drugi frakciji določa težke kovine, vezane na Fe in Mn okside in hidrokside, v tretji težke kovine, vezane na organsko snov tal in sulfide, v četrti (ostanek) pa ostale, povečini nesilikatne oblike. Razvita je bila z namenom poenotenja metod, kar omogoča tudi večjo primerljivost med različnimi študijami.

Povod za raziskovalno nalogo so bili rezultati predhodnih raziskav, ki so nakazovali, da BCR metoda ni primerna za tla bogata s karbonati (Grčman in sod., 2005a). Na osnovi primerjave rezultatov za vzorce, ki imajo velik delež karbonatov, in vzorce z manjšim deležem karbonatov smo namreč ugotovili, da večje količine karbonatov vplivajo na uspešnost ekstrakiranja kovin v drugi frakciji, zaradi česar je vsebnost kovin v tej frakciji lahko podcenjena, posledično pa se poveča delež v frakcijah, ki sledijo.

V naši nalogi smo želeli ovrednotiti, kolikšen je vpliv vsebnosti karbonatov v tleh na uspešnost standardizacije BCR sekvenčne ekstrakcije. Uporabili smo pet talnih vzorcev z različno vsebnostjo karbonatov iz izbranih lokacij v Mestni občini Ljubljana in referenčni material, za katere smo uporabili štiristopenjsko BCR in šeststopenjsko Tessier-jevo sekvenčno ekstrakcijo. V vsaki frakciji smo ugotavljali porazdelitev ali frakcionacijo posameznih oblik ali frakcijo Pb v tleh, ugotavljali pH ekstrakcijske raztopine pred in po ekstrakciji talnega vzorca ter ostanek karbonatov v vzorcu po ekstrakciji.

Rezultati sekvenčnih ekstraktij so pokazali, da se Pb v tleh nahaja v zelo majhnem obsegu (je pod mejo detekcije) v oblikah, ki so rastlinam neposredno dostopne: topne v talni raztopini ali izmenljive s talnih koloidov. Svinec se je tako pri štiristopenjski BCR kot šeststopenjski Tessier-jevi sekvenčni ekstrakciji v največji meri nahajal v rastlinam nedostopni frakciji: organski frakciji in ostanku. S Tessier-jevo metodo smo določili tudi

del Pb vezanega na karbonate, z BCR metodo pa na Fe in Mn okside, vendar samo pri vzorcih z manjšim deležem karbonatov.

Po prvi frakciji BCR metode ostane v vzorcu še vedno velik delež karbonatov, ki vplivajo na uspešnost druge faze ekstrahiranja. pH v drugi fazi ekstrahiranja naj bi bil nizek (1,5), vendar ga prisotni karbonati dvignejo do 4,7, kar zmanjša ekstrakcijsko moč hidroksilaminhidroklorida, ki ga uporabljamo v drugi frakciji. Posledično je spremenjen tudi delež Pb v III. (organsko vezan Pb) in IV. frakciji (ostanek).

Tessier-jeva sekvenčna shema je bolj natančna, saj loči topne kovine v talni raztopini, izmenljive kovine in kovine, vezane na karbonate. Tudi pri Tessier-jevi shemi ostanejo karbonati v vzorcu po končani frakciji za določitev karbonatno vezanih kovin in vplivajo na pH ekstrakcijske raztopine v naslednji frakciji (vezava na Fe in Mn okside). Morda je ravno previsok pH v tej frakciji vzrok, da nismo v nobenem vzorcu določili Pb, vezanega na Fe in Mn okside.

## 7 VIRI

- Bacon R.J., Davidson M.C. 2008. Is there a future for sequential chemical extraction? *Analyst*, 133: 25-46
- Baćac N. 2005. Vpliv nekaterih talnih lastnosti na frakcionacijo svinca in cinka v onesnaženih tleh Celjske regije. Diplomsko delo. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: 48 str.
- Barceló J., Poschenrieder C. 1990. Plant water relations as affected by heavy metal stress: A review. *Journal of Plant Nutrition*, 13, 1: 1-37
- Bergmann W. 1992. Colour atlas nutritional disorders of plants. Jena, Stuttgart, New York: Fisher: 386 str.
- Chen T.B., Wong J.W.C., Zhou H.Y., Wong M.H. 1997. Assessment of trace metal distribution and contamination in surface soils of Hong Kong. *Environmental Pollution*, 96: 61-68
- Chlopecka A., Bacon J.R., Wilson M.J., Kay J. 1996. Heavy metals in the environment. *Journal of Environmental Quality*, 25: 69-79
- Davidson M.C., Hursthouse S.A., Tognarelli M.D., Ure M.A., Urquhart J.G. 2004. Should acid ammonium oxalate replace hydroxylammonium chloride in step 2 of the revised BCR sequential extraction protocol for soil and sediment. *Analytica Chimica Acta*, 508: 193-199
- Grčman H., Zupan M., Perič F., Lobnik F. 2005a. Is a BCR three-step sequential extraction procedure suitable for soils with high content of carbonate? V: 8th International Conference on the biogeochemistry of trace elements, Adelaide, Australia 3-7 April 2005. Book of abstract: ICOBTE: 74-75
- Grčman H., Lobnik F., Zupan M., Vrščaj B., Kralj T., Pačnik T., Ruprecht J., Hodnik A. 2005b. Sofinanciranje EU projekta z naslovom URBSOIL "Urban soils as a source and sink for pollution: towards a common European methodology for the evaluation of their environmental quality as a tool for sustainable resource management": končno poročilo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Center za pedologijo in varstvo okolja: 43 str.
- ISO 11466. Soil quality – Extraction of trace elements soluble in aqua regia. 1995: 6 str.
- ISO 11047. Soil quality – Determination of cadmium, chromium, cobalt, copper, lead, manganese, nickel and zinc – Flame and electrothermal atomic absorption spectrometric methods. 1995
- Kabala C., Singh B.R., 2001. Fractionation and mobility of copper, lead and zinc in soil profiles in the vicinity of a copper smelter. *Journal of Environmental Quality*, 30: 485-492

- Kabata-Pendias A., Pendias H. 1984. Trace Elements in Soil and Plants. Boca Ratan, Florida CRC Press: 315 str.
- Kabata-Pendias A., Pendias H. 1992. Trace Elements in Soil and Plants, Boca Ratan CRC Press: 315 str.
- Leštan D. 2002. Ekopedologija. Študijsko gradivo. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: 268 str.
- Leštan D., Grčman H., Zupan M., Bačac N. 2003. Relationship of soil properties to fractionation of Pb and Zn in soil and their uptake into *Plantago lanceolata*. Soil and Sediment Contamination, 12: 507-522
- Li X., Thornton I. 2001. Chemical partitioning of trace and major elements in soils contaminated by mining and smelting activities. Applied Geochemistry, 16: 1693-1706
- Maiz I., Arambarri I., Garcia R., Millan E. 2000. Evaluation of heavy metal availability in polluted soils by two sequential extraction procedures using factor analysis. Environmental Pollution, 110: 3-9
- Mossop F.K., Davidson M.C. 2003. Comparison of original and modified BCR sequential extraction procedures for the fractionation of copper, iron, lead, manganese and zinc in soils and sediments. Analytica Chimica Acta, 478: 111-118
- Oliver M.A. 1997. Soil and human health. European Journal of Soil Science, 48: 573-592
- Perič F. 2004. Frakcionacija nekaterih težkih kovin v tleh mestne občine Ljubljana. Diplomsko delo. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: 48 str.
- Pichtel J., Sawyerr H.T., Czarnowska K. 1997. Spatial and temporal distribution of metals in soils in Warsaw, Poland. Environmental Pollution, 98: 169-174
- Ramos L., Hernandez L.M, Gonzales M.J. 1994. Sequential fractionation of copper, lead, cadmium and zinc in soil from or near Doñana national park. Journal of Environmental Quality, 23: 50-57
- Rauret G., Lopez-Sanchez J.F., Sahuquillo A., Rubio R., Davidson C., Ure A., Quevauviller Ph. 1999. Improvement of the BCR three step sequential extraction procedure prior to the certification of new sediment and soil reference materials. Journal of Environmental Monit, 1: 57-61
- Rieuwerts J.S., Thornton I., Farago M.E., Ashmore M.R. 1998. Factors influencing metal bioavailability in soils: preliminary investigations for the development of a critical loads approach for metals. Chemical Speciation and Bioavailability, 10 (2): 61-75
- Ross S.M. 1994. Toxic Metals in Soil Plant System. New York, John Wiley and Sons: 469 str.

SIST ISO 10693. Kakovost tal – ugotavljanje vsebnosti karbonatov – volumetrijska metoda. 1996: 7str.

Tessier A., Campbell P.G.C. and Bisson M. 1979. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. *Analytica Chimica Acta*, 51: 844-850

Uredba o mejnih, opozorilnih in kritičnih emisijskih vrednostih nevarnih snovi v tleh. Ur.l.RS. št. 68-5773/96

Wassay S.A., Barrington S., Tokunaga S. 1998. Retention Form of Heavy Metals in Three Polluted Soils. *Journal of Soil Contamination*, 7, 1: 103-119

## ZAHVALA

Iskreno se zahvaljujem mentorici doc. dr. Heleni Grčman za ponujeno možnost, strokovno pomoč in nasvete pri izdelavi diplomske naloge.

Zahvaljujem se tudi Rozaliji Ilc in Andreji Hodnik za pomoč pri izvedbi praktičnega dela.

Hvala tudi vsem sodelavcem s Centra za pedologijo in varstvo okolja, ki so mi kakorkoli pomagali pri delu.

Iskreno se zahvaljujem staršema za podporo, vzpodbujanje in materialno pomoč v času študija.



## PRILOGA A

Koncentracije Pb (mg/kg), v posamezni talni frakciji modificirane štiristopenjske BCR sekvenčne ekstrakcije (I-IV): I-Pb topen, izmenljivo vezan, vezan na karbonate; II-Pb vezan na Fe in Mn okside; III-Pb vezan na organsko snov; IV-Pb v ostanku. Podane so posamezne meritve ter povprečje in standardna deviacija treh ponovitev, pri BCR 701 v štirih ponovitvah.

<b>VRTEC MOL 10282</b>	<b>I</b>	<b>II</b>	<b>III</b>	<b>IV</b>
1	<6	45,6	23,0	15,0
2	<6	48,0	19,0	12,0
3	<6	33,6	25,5	14,0
<b>povprečje</b>	<b>0,0</b>	<b>42,4</b>	<b>22,5</b>	<b>13,7</b>
<b>st. deviacija</b>	<b>0,0</b>	<b>7,7</b>	<b>3,3</b>	<b>1,5</b>
<b>VRTEC MOL 10789</b>	<b>I</b>	<b>II</b>	<b>III</b>	<b>IV</b>
1	<6	56,0	35,5	36,0
2	<6	64,4	32,5	18,0
3	<6	56,8	35,0	15,0
<b>povprečje</b>	<b>0,0</b>	<b>59,1</b>	<b>34,3</b>	<b>23,0</b>
<b>st. deviacija</b>	<b>0,0</b>	<b>4,6</b>	<b>1,6</b>	<b>11,4</b>
<b>VRTEC MOL 14275</b>	<b>I</b>	<b>II</b>	<b>III</b>	<b>IV</b>
1	<6	24,8	109,5	67,0
2	<6	21,2	93,0	50,0
3	<6	22,4	87,5	73,0
<b>povprečje</b>	<b>0,0</b>	<b>22,8</b>	<b>96,7</b>	<b>63,3</b>
<b>st. deviacija</b>	<b>0,0</b>	<b>1,8</b>	<b>11,4</b>	<b>11,9</b>
<b>KRIŽIŠČE MOL 11027</b>	<b>I</b>	<b>II</b>	<b>III</b>	<b>IV</b>
1	<6	20,4	58,0	24,0
2	<6	22,4	66,5	27,0
3	<6	21,2	68,0	28,0
<b>povprečje</b>	<b>0,0</b>	<b>21,3</b>	<b>64,2</b>	<b>26,3</b>
<b>st. deviacija</b>	<b>0,0</b>	<b>1,0</b>	<b>5,4</b>	<b>2,1</b>
<b>KRIŽIŠČE MOL 14707</b>	<b>I</b>	<b>II</b>	<b>III</b>	<b>IV</b>
1	<6	15,2	94,0	30,0
2	<6	16,4	92,0	32,0
3	<6	15,2	94,5	49,0
<b>povprečje</b>	<b>0,0</b>	<b>15,6</b>	<b>93,5</b>	<b>37,0</b>
<b>st. deviacija</b>	<b>0,0</b>	<b>0,7</b>	<b>1,3</b>	<b>10,4</b>
<b>BCR 701</b>	<b>I</b>	<b>II</b>	<b>III</b>	<b>IV</b>
1	<6	122,4	8,9	11,0
2	<6	118,4	6,5	7,0
3	<6	121,2	11,5	12,0
4	6	118,8	9,5	8,5
<b>povprečje</b>	<b>0,0</b>	<b>120,2</b>	<b>9,1</b>	<b>9,6</b>
<b>st. deviacija</b>	<b>0,0</b>	<b>1,9</b>	<b>2,1</b>	<b>2,3</b>

## PRILOGA B

Koncentracije Pb (mg/kg), v posamezni talni frakciji sekvenčne ekstrakcije, modificirana metoda (Tessier in sod., 1979) (I-VI): I-Pb topen; II-Pb izmenljivo vezan; III-Pb vezan na karbonate; IV-Pb vezan na Fe in Mn okside; V-Pb vezan na organsko snov; VI-Pb v ostanku. Podane so posamezne meritve ter povprečje in standardna deviacija treh ponovitev, pri BCR 701 v štirih ponovitvah.

<b>VRTEC MOL 10282</b>	I	II	III	IV	V	VI
1	<2	<2	6,3	0,0	65,1	20,0
2	<2	<2	6,5	0,0	61,5	21,0
3	<2	<2	6,5	0,0	51,9	20,0
<b>povprečje</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>6,4</b>	<b>0,0</b>	<b>59,5</b>	<b>20,3</b>
<b>st. deviacija</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,1</b>	<b>0,0</b>	<b>6,8</b>	<b>0,6</b>
<b>VRTEC MOL 10789</b>	I	II	III	IV	V	VI
1	<2	<2	7,4	<4	71,9	40,0
2	<2	<2	8,7	<4	83,7	30,0
3	<2	<2	8,0	<4	73,7	27,0
<b>povprečje</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>8,0</b>	<b>0,0</b>	<b>76,4</b>	<b>32,3</b>
<b>st. deviacija</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,7</b>	<b>0,0</b>	<b>6,4</b>	<b>6,8</b>
<b>VRTEC MOL 14275</b>	I	II	III	IV	V	VI
1	<2	<2	14,9	<4	117,7	52,0
2	<2	<2	14,1	<4	99,2	29,0
3	<2	<2	13,7	<4	96,7	25,0
<b>povprečje</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>14,2</b>	<b>0,0</b>	<b>104,5</b>	<b>35,3</b>
<b>st. deviacija</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,6</b>	<b>0,0</b>	<b>11,5</b>	<b>14,6</b>
<b>KRIŽIŠČE MOL 11027</b>	I	II	III	IV	V	VI
1	<2	<2	10,6	<4	61,4	17,0
2	<2	<2	10,7	<4	65,9	15,0
3	<2	<2	10,8	<4	62,1	19,0
<b>povprečje</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>10,7</b>	<b>0,0</b>	<b>63,1</b>	<b>17,0</b>
<b>st. deviacija</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,1</b>	<b>0,0</b>	<b>2,4</b>	<b>2,0</b>
<b>KRIŽIŠČE MOL 14707</b>	I	II	III	IV	V	VI
1	<2	<2	16,6	<4	85,6	27,0
2	<2	<2	17,3	<4	83,2	26,0
3	<2	<2	17,4	<4	96,4	54,0
<b>povprečje</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>17,1</b>	<b>0,0</b>	<b>88,4</b>	<b>35,7</b>
<b>st. deviacija</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,4</b>	<b>0,0</b>	<b>7,0</b>	<b>15,9</b>
<b>BCR 701</b>	I	II	III	IV	V	VI
1	<2	<2	18,3	<4	102,7	22,0
2	<2	<2	21,6	<4	98,5	26,0
3	<2	<2	18,1	<4	103,1	26,0
4	<2	<2	19,8	<4	99,8	19,2
<b>povprečje</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>19,3</b>	<b>0,0</b>	<b>101,4</b>	<b>24,7</b>
<b>st. deviacija</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>1,6</b>	<b>0,0</b>	<b>2,2</b>	<b>3,3</b>

## PRILOGA C

Karbonati (%), v posamezni talni frakciji modificirane štiristopenjske BCR sekvenčne ekstrakcije (I-IV): I-topen, izmenljivo vezan, vezan na karbonate; II-vezan na Fe in Mn okside; III-vezan na organsko snov; IV-ostanek. Podane so posamezne meritve ter povprečje in standardna deviacija treh ponovitev.

<b>VRTEC MOL 10282</b>	<b>I</b>	<b>II</b>	<b>III</b>	<b>IV</b>
1	7,03	0,83	0,00	0,00
2	7,44	1,25	0,83	0,00
3	7,03	0,97	0,83	0,00
<b>povprečje</b>	<b>7,17</b>	<b>1,02</b>	<b>0,56</b>	<b>0,00</b>
<b>st.deviacija</b>	<b>0,24</b>	<b>0,21</b>	<b>0,48</b>	<b>0,00</b>
<b>VRTEC MOL 14275</b>	<b>I</b>	<b>II</b>	<b>III</b>	<b>IV</b>
1	22,54	12,49	0,00	0,00
2	20,26	12,29	0,83	0,00
3	21,92	12,08	0,83	0,00
<b>povprečje</b>	<b>21,57</b>	<b>12,29</b>	<b>0,56</b>	<b>0,00</b>
<b>st.deviacija</b>	<b>1,18</b>	<b>0,21</b>	<b>0,48</b>	<b>0,00</b>

Karbonati (%), v posamezni talni frakciji sekvenčne ekstrakcije, modificirana metoda (Tessier in sod., 1979): I-topen; II-izmenljivo vezan; III-vezan na karbonate; IV-vezan na Fe in Mn okside; V-vezan na organsko snov; IV-ostanek. Podane so posamezne meritve ter povprečje in standardna deviacija treh ponovitev.

<b>VRTEC MOL 10282</b>	<b>I</b>	<b>II</b>	<b>III</b>	<b>IV</b>	<b>V</b>	<b>VI</b>
1	12,75	12,89	8,67	6	0,04	0,00
2	12,75	13,03	8,94	5,58	0,00	0,00
3	13,58	12,34	9,36	5,44	0,00	0,00
<b>povprečje</b>	<b>13,03</b>	<b>12,75</b>	<b>8,99</b>	<b>5,67</b>	<b>0,01</b>	<b>0,00</b>
<b>st.deviacija</b>	<b>0,48</b>	<b>0,36</b>	<b>0,35</b>	<b>0,29</b>	<b>0,02</b>	<b>0,00</b>
<b>VRTEC MOL 14275</b>	<b>I</b>	<b>II</b>	<b>III</b>	<b>IV</b>	<b>V</b>	<b>VI</b>
1	34,15	27,15	23,32	21,56	0,00	0,00
2	33,74	26,74	23,53	22,19	0,04	0,00
3	33,53	25,92	23,32	21,98	0,00	0,00
<b>povprečje</b>	<b>33,81</b>	<b>26,60</b>	<b>23,39</b>	<b>21,91</b>	<b>0,01</b>	<b>0,00</b>
<b>st.deviacija</b>	<b>0,32</b>	<b>0,63</b>	<b>0,12</b>	<b>0,32</b>	<b>0,02</b>	<b>0,00</b>

## PRILOGA D

pH, v posamezni talni frakciji sekvenčne ekstrakcije, modificirana metoda (Tessier in sod., 1979) : I-topen; II-izmenljivo vezan; III-vezan na karbonate; IV-vezan na Fe in Mn okside; V-vezan na organsko snov. Podane so posamezne meritve ter povprečje in standardna deviacija treh ponovitev.

	pH				
VRTEC MOL 10282	I	II	III	IV	V
1	7,55	6,65	5,17	5,34	0,74
2	7,5	6,68	5,33	5,3	0,71
3	7,58	6,64	5,24	5,3	0,64
<b>povprečje</b>	<b>7,54</b>	<b>6,66</b>	<b>5,25</b>	<b>5,31</b>	<b>0,70</b>
<b>st.deviacija</b>	<b>0,04</b>	<b>0,02</b>	<b>0,08</b>	<b>0,02</b>	<b>0,05</b>
VRTEC MOL 10789	I	II	III	IV	V
1	7,22	6,56	5,2	5,19	0,61
2	7,44	6,58	5,35	5,36	0,6
3	7,75	6,58	5,2	5,36	0,63
<b>povprečje</b>	<b>7,47</b>	<b>6,57</b>	<b>5,25</b>	<b>5,30</b>	<b>0,61</b>
<b>st.deviacija</b>	<b>0,26</b>	<b>0,01</b>	<b>0,08</b>	<b>0,09</b>	<b>0,01</b>
VRTEC MOL 14275	I	II	III	IV	V
1	7,39	6,76	5,5	5,47	0,78
2	7,25	6,8	5,32	5,51	0,81
3	7,25	6,81	5,39	5,49	0,76
<b>povprečje</b>	<b>7,30</b>	<b>6,79</b>	<b>5,40</b>	<b>5,49</b>	<b>0,78</b>
<b>st.deviacija</b>	<b>0,08</b>	<b>0,03</b>	<b>0,09</b>	<b>0,02</b>	<b>0,03</b>
KRIŽIŠČE MOL 11027	I	II	III	IV	V
1	7,25	6,94	5,37	5,63	0,9
2	7,18	6,96	5,34	5,62	0,86
3	7,3	6,95	5,37	5,61	0,78
<b>povprečje</b>	<b>7,24</b>	<b>6,95</b>	<b>5,36</b>	<b>5,62</b>	<b>0,85</b>
<b>st.deviacija</b>	<b>0,06</b>	<b>0,01</b>	<b>0,02</b>	<b>0,01</b>	<b>0,06</b>
KRIŽIŠČE MOL 14707	I	II	III	IV	V
1	7,06	6,94	5,37	5,69	0,76
2	7,5	6,96	5,53	5,62	0,79
3	7,12	6,97	5,42	5,69	0,75
<b>povprečje</b>	<b>7,23</b>	<b>6,96</b>	<b>5,44</b>	<b>5,67</b>	<b>0,77</b>
<b>st.deviacija</b>	<b>0,24</b>	<b>0,02</b>	<b>0,08</b>	<b>0,04</b>	<b>0,02</b>
BCR 701	I	II	III	IV	V
1	7,4	6,72	5,29	3,63	0,63
2	7,33	6,74	5,13	3,46	0,54
3	7,37	6,74	5,45	3,5	0,57
<b>povprečje</b>	<b>7,37</b>	<b>6,73</b>	<b>5,29</b>	<b>3,53</b>	<b>0,58</b>
<b>st.deviacija</b>	<b>0,04</b>	<b>0,01</b>	<b>0,16</b>	<b>0,09</b>	<b>0,05</b>

## PRILOGA E

pH, v posamezni talni frakciji modificirane štiristopenjske BCR sekvenčne ekstrakcije: I-topen, izmenljivo vezan, vezan na karbonate; II-vezan na Fe in Mn okside; III-vezan na organsko snov. Podane so posamezne meritve ter povprečje in standardna deviacija treh ponovitev.

VRTEC MOL	pH		
	I	II	III
<b>VRTEC MOL 10282</b>			
1	4,41	2,32	2,26
2	4,37	2,24	2,29
3	4,35	3	2,33
<b>povprečje</b>	<b>4,38</b>	<b>2,52</b>	<b>2,29</b>
<b>st.deviacija</b>	<b>0,03</b>	<b>0,42</b>	<b>0,04</b>
<b>VRTEC MOL 10789</b>			
1	4,39	2,62	2,27
2	4,37	2,32	2,3
3	4,35	2,43	2,29
<b>povprečje</b>	<b>4,37</b>	<b>2,46</b>	<b>2,29</b>
<b>st.deviacija</b>	<b>0,02</b>	<b>0,15</b>	<b>0,02</b>
<b>VRTEC MOL 14275</b>			
1	4,78	4,64	3,03
2	4,76	4,62	3,18
3	4,76	4,56	3,08
<b>povprečje</b>	<b>4,77</b>	<b>4,61</b>	<b>3,10</b>
<b>st.deviacija</b>	<b>0,01</b>	<b>0,04</b>	<b>0,08</b>
<b>KRIŽIŠČE MOL 11027</b>			
1	5,05	4,79	3,08
2	4,82	4,71	3,06
3	4,91	4,6	3,05
<b>povprečje</b>	<b>4,93</b>	<b>4,70</b>	<b>3,06</b>
<b>st.deviacija</b>	<b>0,12</b>	<b>0,10</b>	<b>0,02</b>
<b>KRIŽIŠČE MOL 14707</b>			
1	4,99	4,52	3
2	5,03	4,73	2,82
3	4,91	4,64	2,85
<b>povprečje</b>	<b>4,98</b>	<b>4,63</b>	<b>2,89</b>
<b>st.deviacija</b>	<b>0,06</b>	<b>0,11</b>	<b>0,10</b>
<b>BCR 701</b>			
1	3,66	1,47	2,23
2	3,68	1,4	2,2
3	3,67	1,32	2,18
<b>povprečje</b>	<b>3,67</b>	<b>1,40</b>	<b>2,20</b>
<b>st.deviacija</b>	<b>0,01</b>	<b>0,08</b>	<b>0,03</b>