

Absorpcyjna atomowa spektrometria

Oznaczenie zawartości jonów Zn^{2+} i Ca^{2+} w roślinach

Szatanik-Kloc A.*, Boguta P.*, Sokołowska Z.*, Hajnos M.*, Alekseeva T.**, Alekseev A.**

Do oznaczenia zawartość cynku i wapnia w ekstraktach z korzeni i części nadziemnych żyta ozimego odmiany Rostockie, wykorzystano Absorpcyjny Atomowy Spektrometr AAS 3300. Badane rośliny pochodziły z uprawy hydroponicznej. W fazie rozwoju strzelanie w źdźbło, do pożywki dodatkowo zaaplikowano fitotoksyczne ilości jonów Zn^{2+} (jako $ZnCl_2$) w stężeniach 20, 200, 400 $mg \cdot dm^{-3}$ pożywki. Zaobserwowano istotny wzrost zawartości cynku w korzeniach i w częściach nadziemnych badanych roślin. Jednocześnie fitotoksyczne stężenia cynku w pożywce wpłynęły istotnie na obniżenie zawartości jonów wapnia w korzeniach i w częściach nadziemnych żyta.

Wprowadzenie

Absorpcyjna atomowa spektrometria jest obecnie najprostszą i najbardziej selektywną metodą analityczną oznaczania śladowych ilości metali w różnych materiałach. Polega ona na pomiarze promieniowania monochromatycznego pochłoniętego przez wolne atomy danej substancji. Metodą tą można oznaczać większą liczbę pierwiastków. Charakteryzuje się dużą czułością i specyficznością, która wynika między innymi z tego, że promieniowanie emitowane przez jedną lampę może być absorbowane wyłącznie przez atomy jednego pierwiastka. Przy wykorzystaniu lamp z katodą wnątkową istnieje możliwość stosowania do oznaczania niektórych pierwiastków, lamp dwu- lub trój pierwiastkowych. Lampy z katodą wnątkową dają najlepsze efekty (jeżeli chodzi o czułość pomiaru) w ozna-

czeniu trudno wzbudzających się pierwiastków, w analizie małych próbek, w analizie śladowej, oraz w oznaczaniu izotopów. Granica oznaczalności wielu metali leży pomiędzy 0,01 a 10 ppm, przy błędzie względnym precyzji 2% [Cygarski, 1993].

Celem pracy było wykorzystanie metody AAS do oznaczenia zawartości cynku w roślinach żyta stresowanego wysokimi stężeniami tego metalu w pożywce. Metodę tę wykorzystano również do oznaczenia zawartości wapnia, w celu określania czy i w jaki sposób wysokie stężenia cynku w środowisku wzrostu roślin wpływają na zawartość wapnia w roślinach.

Materiał i metody

Otrzymanie materiału roślinnego do analizy

Zawartość cynku i wapnia oznaczano w korzeniach i częściach nadziemnych żyta (*Se-*

cale cereale L.) formy ozimej odmiany Rostockie, uprawianego metodą hydroponiczną. Początkowy wzrost roślin odbywał się na pożywce przygotowanej z następujących odczynników o stopniu czystości cz.d.a.: $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$; $Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$; $(NH_4)_2SO_4$; KH_2PO_4 ; K_2SO_4 ; KNO_3 ; $NaCl$; H_3BO_3 ; $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$; $MnMoO_4 \cdot 2H_2O$; Fe-EDTA. Skład pożywki w $mg \cdot dm^{-3}$ wynosił: 50,8 Ca; 6,6 Mg; 52 NO_3 ; 4,1 NH_4 ; 3,85 S; 29,6 K; 0,34 Mn; 0,07 B; 0,01 Cu; 0,005 Mo; 1,0 Fe i pH 7, w cyklu dobowym 16 godz. (dzień) i 8 godz.(noc), w temperaturze 23°C (dzień) i 16°C (noc). Nasiona roślin wysiano do napowietrzanych polietylenowych pojemników zaopatrzonych w styropianowe wkładki z nawierconymi otworami. Spodnią stronę wkładki zabezpieczała siatka. Pomiedzy wkładką a siatką umieszczono bibułę filtracyjną. Do każdego pojemnika (5

dm^3) wysiano po 80 nasion, a po siewku pozostawiono po 40 roślin, usuwając jednocześnie bibułę filtracyjną. W fazie strzelania w źdźbło obniżono odczyn pożywki do pH 4,5 i do części pożywki zaaplikowano dodatkowo cynk ($ZnCl_2$) w stężeniach 20, 200, 400 $mg \cdot dm^{-3}$. Pozostała część roślin rosła na pożywce takiej samej jak w początkowej fazie wzrostu, przy pH 7 i przy pH 4,5 bez dodatkowej aplikacji jonów Zn^{2+} . Eksperyment przeprowadzono w trzech powtórzeniach dla każdej serii. Zebrane korzenie roślin zostały przepłukane 0,01 $mol \cdot dm^{-3}$ roztworem kwasu solnego i trzykrotnie wodą destylowaną w celu odmycia zaadsorbowanych wymiennie jonów powierzchniowych (standaryzacja próbki) a następnie oddzielone od części nadziemnych. Po czym materiał roślinny suszono w 105°C przez 24 godziny. W celu oznaczenia



całkowitej zawartości cynku i wapnia w roślinach, należy je uprzednio zmineralizować na sucho.

Mineralizacja materiału roślinnego

W parownicach kwarcowych umieszczono po 0,5 g suchego, zmielonego materiału roślinnego (w roślinach pochodzących z naturalnego środowiska, zawartość miedzi i wapnia jest znacznie mniejsza dlatego w standartowych procedurach mineralizacji na sucho masa roślin powinna wynosić od 5-10 g). Materiał roślinny spalano na sucho w piecu muflowym FCF 12 SP w temperaturze 450°C przez 3-4 godziny. Po wyłączeniu pieca parownice pozostawiono do wystygnięcia. Następnie popiół (o barwie szarobiałej lub szarej) zwilżono odrobiną wody destylowanej i w celu rozłożenia węglanów dodano 10 ml wody królewskiej (HCl i HNO₃ w stosunku 3:1). Ekstrakt przesączono na twardych sączkach, do kolb miarowych o pojemności 25 cm³ i dopełniamy wodą destylowaną do żądanej objętości. Równoległe przygotowano dwie próby kontrolne (bez popiołu) dodając do kwarcowych parownic jedynie wodę i kwas [Karczewska i Kabała, 2005].

Oznaczenie cynku i wapnia w ekstrakcie

Zawartość cynku i wapnia w badanym materiale roślinnym oznaczono przy wykorzystaniu Absorpcyjnego Atomowego Spektrometru AAS 3300 z atomizerem płomieniowym typu powietrze-acetylen.

Do wyznaczenia krzywej wzorcowej wykorzystano ZnCl₂. Krzywą wzorcową skonstruowano z 6 punktów dla stężenia cynku: 0 (woda redestylowana), 0,4; 0,8; 1,2; 1,6; 2,0 mg·dm⁻³. Cynk oznaczano przy analitycznej długości fali 213 nm.

Wapń oznaczano w ekstrakcie roślinnym z dodatkiem 1% roztworu LaCl₃. Dodatek chlorku lantanu do roztworu uniemożliwia tworzenie trudno rozpuszczalnych soli oznaczanego kationu wapnia. Liniową krzywą wzorcową sporządzono z Ca(NO₃)₂ · 4H₂O. Maksymalny zakres krzywej wynosił 5 mg · dm⁻³. Wapń oznaczano przy analitycznej długości fali 422,2 nm.

Wyniki i dyskusja

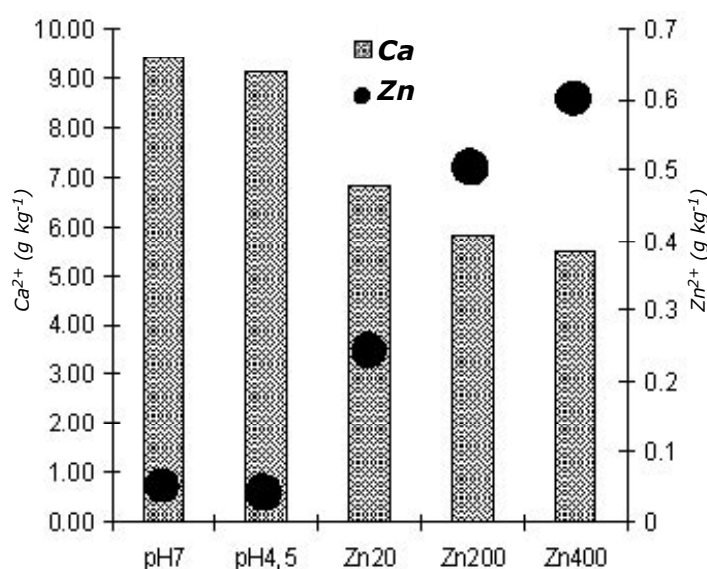
Zawartość cynku i wapnia w ekstraktach z korzeni badanych roślin przedstawiono na rysunku 1.

Wraz ze wzrostem stężenia cynku w pożywce, wzrastała zawartość cynku w korzeniach żyta. Jednocześnie antagonistyczne oddziaływanie pomiędzy jonami cynku i wapnia spowodowało znaczne zmniejszenie zawartości jonów Ca²⁺ w tych korzeniach.

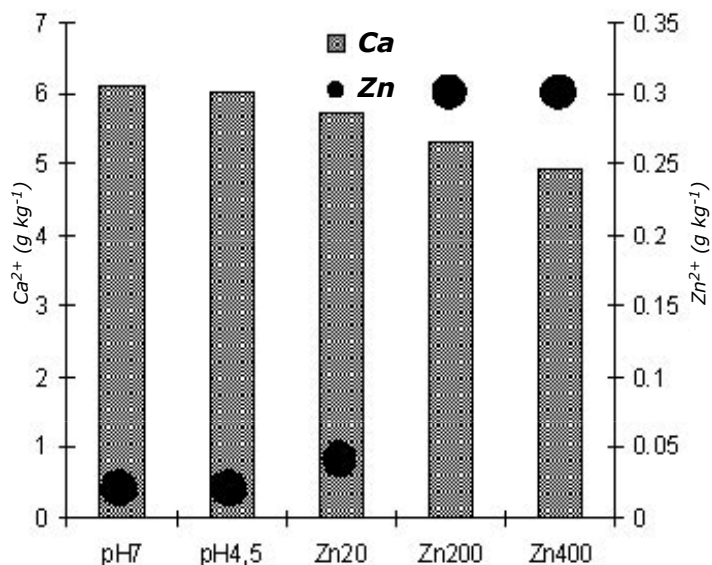
Wapń jest pierwiastkiem pobieranym przez rośliny jako makroelement. W roślinie pełni on funkcję regulatora aktywności wielu enzymów, między innymi ATPazy, fosfolipazy, amylazy. Wapń łatwo łączy się z cukrowcami, np. pektynami, tworząc pektyniany wapnia, które wpływają na stabilność apoplastycznej części komórek (ścianę komórkową). Wapń jest również stabi-

lizatorem błon komórkowych, a także pełni rolę przekaźnika informacji w regulacji metabolizmu w kompleksie z kalmoduliną i innymi białkami [Starck 2007]. Widocznymi objawami deficytu wapnia jest zahamowanie wzrostu roślin, zamieranie wierzchołków pędów, śluzowacenie korzeni, deformacja i zasychanie liści. Cynk w roślinach aktywuje wiele enzymów. Od obecności jonów cynku zależy między innymi aktywność anhidrazy węglanowej, dehydrogenazy alkoholowej i dehydrogenazy zredukowanego NAD (dwunukleotyd nikotynamido-adeninowy) i NADP (fosforan dwunukleotydu nikotynamido-adeninowy). Cynk reguluje proporcje składników na poziomie komórki co wpływa na przepuszczalność błon komórkowych. Jony cynku determinują również procesy powstawania rybosomów.

Brak tego pierwiastka upośledza syntezę tryptofanu, co bezpośrednio wpływa na produkcję auksyn, pośrednio zaś prowadzi do ograniczenia szybkości wzrostu rośliny. Zarówno jego niedobór jak i nadmiar wpływa na rośliny negatywnie. Na przyswajanie jonów cynku wpływa między innymi odczyn i stosunek jonów Ca⁺/Zn⁺ w roztworze glebowym. Na glebach kwaśnych bez względu na formy cynku, jego rozpuszczalność wzrasta proporcjonalnie do spadku pH gleby a więc wzrasta i przyswajalność cynku co w znacznej mierze może ograniczyć rozwój roślin zbożowych. Kwaśny odczyn podłoża sprzyja zatem wzrostowi zawartości tego mikroelementu szczególnie w korzeniach roślin. Jednocześnie ogranicza dostępność wapnia. Nadmiar jonów cynku gromadzi się zazwyczaj w korzeniu i liściach. W ko-



Rys. 1. Zawartość cynku i wapnia (g · kg⁻¹) w korzeniach żyta ozimego odmiany Rostockie. Liczba za symbolem pierwiastka dotyczy stężenia cynku w pożywce



Rys. 2. Zawartość cynku i wapnia ($g \cdot kg^{-1}$) w częściach nadziemnych żyta ozimego odmiany Rostockie. Liczba za symbolem pierwiastka dotyczy stężenia cynku w pożywce

rzeniach cynk gromadzi się w zewnętrznych warstwach – w ryzodermie i komórkach kory pierwotnej przy czym cynk jest obecny głównie w ścianach komórkowych i w wakuoli [Baranowska-Morek 2003].

Zawartość cynku i wapnia w częściach nadziemnych badanego żyta przedstawiono na rysunku 2. Przy wysokiej zawartości w podłożu, jony cynku wykazują dużą zdolność przemieszczania się do części nadziemnych rośliny [Abratowska 2006]. Stąd też, w badanych roślinach żyta, fitotoksyczne stężenia cynku w pożywce również wpłynęły na wzrost zawartości tego metalu ciężkiego w częściach nadziemnych.

Do pokrycia fizjologicznych potrzeb większości roślin wystarcza stężenie cynku w liściach w zakresie $15\text{--}30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Stężenie jonów cynku w pożywce wynoszące $20 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ tylko nieznacznie wpłynęło na zwiększenie się zawartości cynku w częściach nadziemnych badanego żyta. Istotny wzrost zawartości cynku w tych częściach odnotowano dla stężeń cynku 200 i $400 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ pożywki.

Nie odnotowano wyraźnego wpływu kwaśnego odczynu pożywki (pH 4,5) na zmianę zawartości jonów wapnia i cynku w badanych roślinach. W literaturze przedmiotu co prawda niejednokrotnie donoszono, że kwaśny odczyn gleby wpływał na rozpuszczal-

ność, migrację i przyswajalność badanych pierwiastków (Alcantara i in. 2001, Kabata-Pendias i Pendias 1999). Wiąże się to przede wszystkim z przechodzeniem z kompleksu sorpcyjnego gleby do roztworu glebowego (środowiska rzeczywistego korzeni roślin) form łatwotwymiennych a więc łatwo przyswajalnych dla roślin, natomiast pożywka na, której rosły badane rośliny jest odpowiednikiem roztworu glebowego, tak więc odczyn pożywki nie musiał wpłynąć na zawartość w roślinach badanych jonów Ca^{+2} i Zn^{+2} .

Wnioski

1. Dodatkowo zaaplikowane jony cynku do pożywki, wpłynęły na wzrost zawartości tego metalu ciężkiego w korzeniach i częściach nadziemnych badanego żyta.
2. Zawartości wapnia zarówno w korzeniach jak i częściach nadziemnych badanego żyta zmniejszyła się wraz ze wzrostem zawartości jonów cynku.

Literatura

Abratowska A. Armeria Maritima – Gatunek roślin przystosowany do wzrostu na glebach skażonych metalami ciężkimi. Kosmos. Problemy Nauk Biologicznych. T.55, Nr 2-3, s.217-227, 2006
Alcantara A., Ginhaus A. M., Ojeda M. A., Benitez M. J., Benlloch M., 2001. Metal accumulation by different plant

species grown in contaminated media. W.J. Horst et. al. (Eds.) Plant nutrition – Food security and sustainability of agro-ecosystems, 460-46

Baranowska-Morek A. Roślinne mechanizmy tolerancji na toksyczne działanie metali ciężkich. Kosmos. Problemy Nauk Biologicznych. T.52, Nr 2-3, s.283-298, 2003

Cygański A. 1993. Metody spektroskopowe w chemii analitycznej. Wydawnictwo Naukowe - Techniczne, Warszawa, ISBN 83-204-1665-5

Karczewska A., Kabała C. 2005. Metody analiz laboratoryjnych gleb i roślin. AR we Wrocławiu. Instytut Gleboznawstwa i Ochrony Środowiska Rolniczego. Zakład ochrony środowiska. Wrocław.

Kabata-Pendias A., Pendias H. 1999. Biogeochemia pierwiastków śladowych. Wydawnictwo Naukowe PAN, Warszawa

*Instytut Agrofizyki PAN im. Bohdana Dobrzańskiego, Lublin, e-mail a.kloc@ipan.lublin.pl

**Instytut Fizykochemicznych i Biologicznych Problemów w Gleboznawstwie RAN, Puszczyno, Rejon Moskwa, Rosja Temat był zaprezentowany w postaci referatu na Ogólnopolskim sympozjum „Nauka i przemysł - metody spektroskopowe w praktyce, nowe wyzwania i możliwości” UMCS, Lublin 2009 r.