

VISOKA ŠOLA ZA VARSTVO OKOLJA VELENJE

DIPLOMSKO DELO

**HITRI TESTI ZA KEMIJSKO ANALIZO TAL: OPTIMIZACIJA
ECOLABBOX METODE IN PRIMERJAVA METODE Z
DRUGIMI TESTI NA TERENU**

MANJA GLOBAČNIK

VELENJE, 2019

VISOKA ŠOLA ZA VARSTVO OKOLJA VELENJE

DIPLOMSKO DELO

**HITRI TESTI ZA KEMIJSKO ANALIZO TAL: OPTIMIZACIJA
ECOLABBOX METODE IN PRIMERJAVA METODE Z
DRUGIMI TESTI NA TERENU**

Manja Globačnik
Varstvo okolja in ekotehnologije

Mentorica: pred. dr. Anja Bubik

VELENJE, 2019

IZJAVA O AVTORSTVU

Podpisana Manja Globačnik, vpisna številka 34110060, študentka visokošolskega strokovnega študijskega programa Varstvo okolja in ekotehnologije, sem avtorica diplomskega dela z naslovom Hitri testi za kemijsko analizo tal: optimizacija EcoLabBox metode in primerjava metode z drugimi testi na terenu, ki sem ga izdelala pod mentorstvom pred. dr. Anje Bubik.

S svojim podpisom zagotavljam, da:

- je predloženo delo moje avtorsko delo, torej rezultat mojega lastnega raziskovalnega dela;
- oddano delo ni bilo predloženo za pridobitev drugih strokovnih nazivov v Sloveniji ali tujini;
- so dela in mnenja drugih avtorjev, ki jih uporabljam v predloženem delu, navedena oz. citirana v skladu z navodili VŠVO;
- so vsa dela in mnenja drugih avtorjev navedena v seznamu virov, ki je sestavni element predloženega dela in je zapisan v skladu z navodili VŠVO;
- se zavedam, da je plagiatorstvo kaznivo dejanje;
- se zavedam posledic, ki jih dokazano plagiatorstvo lahko predstavlja za predloženo delo in moj status na VŠVO;
- je diplomsko delo jezikovno korektno in da je delo lektorirala Marija Bubik, prof. slovenskega jezika;
- dovoljujem objavo diplomskega dela v elektronski obliki na spletni strani VŠVO;
- sta tiskana in elektronska verzija oddanega dela identični.

Datum: ____ . ____ . _____

Podpis avtorja/ice: _____

ZAHVALA

Zahvaljujem se mentorici dr. Anji Bubik za strokovno pomoč in napotke pri pisanju diplomskega dela.

Posebna zahvala gre moji družini, ki mi je med študijem in pisanjem diplomskega dela stala ob strani.

Hvala!

IZVLEČEK

Izbira zanesljivih metod in pravilno vzorčenje nekega medija sta ključnega pomena za natančnost pri izvajanju fizikalno-kemijskih analiz. Boljšo metodo izberemo, manj napak lahko naredimo. Pomemben je tudi čas, ki ga za izvajanje analiz potrebujemo. Zato se v laboratorijih in tudi na terenu raziskovalci velikokrat odločajo za hitre, predpripravljene teste. Z njimi v realnem času in na mestu dobimo rezultate, ki so tudi zanesljivi in konkurenčni ostalim laboratorijskim testom. Storitve analiz medija v zasebnih laboratorijih so lahko drage, hkrati pa se lahko na rezultate čaka tudi po več tednov, nasprotno pa so komercialni testni seti bolj dostopni. EcoLabBox je laboratorijski kovček za izvajanje okoljskih analiz na terenu. Omogoča enostaven dostop do okoljskih preiskav. Zajema analize kakovosti zraka, vode in zemlje. Skupaj vsebuje 21 različnih testov.

V diplomskem delu smo testirali EcoLabBox kolorimetrične metode za analizo tal, jih poskusili optimizirati glede na jasnost postopkov in porabo reagentov ter jih primerjali z drugimi hitrimi testi za analizo tal na trgu. Ugotovili smo, da je testiranje tal po metodah EcoLabBox enostavno, ponovljivo in hitro. V času izvajanja analiz pa smo ugotovili, da lahko z enostavnimi koraki optimizacije analize še izboljšamo glede zanesljivosti. Prav tako smo ugotovili, da so rezultati pri uporabi polovičnih vrednosti reagentov enaki rezultatom s celimi vrednostmi reagentov, kar pomeni, da je metoda s polovičnimi vrednostmi primerna za izvajanje EcoLabBox testiranj. Na podlagi primerjav podobnih testov lahko zaključimo, da je EcoLabBox terenski kovček dobra izbira za hitre analize glede na širino uporabe in število parametrov, ki jih lahko določimo, in glede na ceno.

Ključne besede: EcoLabBox, kolorimetrija, hitri testi, analiza tal, optimizacija metode.

ABSTRACT

Choosing reliable methods and proper sampling of a certain medium is crucial for carrying out precise physicochemical analyses. The better the method, the fewer the errors. Time needed to conduct these analyses is another important factor. Therefore, researchers in laboratories and in the field often opt for rapid, pre-prepared tests. They provide reliable results in real time and on site, comparable with other laboratory tests. Medium analysis services provided by private laboratories can be quite costly and time consuming as the results can take up to several weeks while commercial test kits are more accessible. EcoLabBox is a laboratory kit for carrying out environmental field testing. It provides easy access to environmental testing and enables the analysis of air, water and soil quality with a total of 21 different tests.

In this diploma thesis we tested EcoLabBox colorimetric methods for soil analysis and tried to optimize them in terms of process clarity and reagent consumption. Furthermore, we compared them with other rapid tests for soil analysis that are available on the market. We discovered that soil testing using EcoLabBox methods is easy, repeatable and fast. However, during the analysis, we also found that we could improve their reliability by taking some simple steps for analysis optimization. Furthermore, we learned that the results at half-values are equal to the results at full reagent values, which means that the half-value method is suitable for performing EcoLabBox tests. Comparing similar tests helped us conclude that the EcoLabBox mobile kit is a good choice for conducting quick analyses considering the scope of its usage, the number of determinable parameters and its price.

Keywords: EcoLabBox, colorimetry, rapid tests, soil analysis, method optimization

KAZALO VSEBINE

1	UVOD	1
1.1	Opredelitev problema	1
1.2	Namen in cilji	1
1.3	Hipotezi	2
2	KEMIJSKA ANALIZA TAL.....	3
2.1	Zakonodaja v Sloveniji.....	3
2.2	Metode v analizni kemiji.....	4
2.2.1	Kolorimetrija.....	4
2.3	Hitri testi	5
2.4	EcoLabBox	6
2.5	Kolorimetrična določitev parametrov v tleh	7
2.5.1	Kolorimetrično določanje pH vrednosti.....	7
2.5.2	Kolorimetrično določanje nitrata.....	8
2.5.3	Kolorimetrično določanje nitrita	8
2.5.4	Kolorimetrično določanje amonija	8
2.5.5	Kolorimetrično določanje fosfata	9
3	MATERIALI IN METODE	11
3.1	Vzorčenje	11
3.1.1	Komercialna univerzalna zemlja (T1).....	11
3.1.2	Zemlji iz realnega okolja (T2 in T3).....	11
3.2	Testiranje EcoLabBox metod.....	12
3.2.1	Določitev pH	12
3.2.2	Določitev vsebnosti nitratov	13
3.2.3	Določitev vsebnosti nitritov	13
3.2.4	Določitev vsebnosti amonija	13
3.2.5	Določitev vsebnosti fosfatov	13
3.3	Optimizacija in nadgradnja EcoLabBox metod.....	13
3.3.1	Optimizacija posameznih korakov EcoLabBox metod.....	13
3.3.2	Optimizacija EcoLabBox metod s polovičnimi vrednostmi.....	16
3.4	Primerjava EcoLab Box terenskega kovčka z drugimi proizvajalci	16
4	REZULTATI Z DISKUSIJO	17
4.1	EcoLabBox metode - hitri testi za analizo tal.....	17
4.2	Optimizacija in nadgradnja EcoLabBox metod.....	18
4.2.1	Optimizacija EcoLabBox metode z uporabo filtracije	18
4.2.2	Optimizacija EcoLabBox metode z uporabo magnetnega mešala	20
4.2.3	Optimizacija EcoLabBox metode z uporabo digitalnih meritev.....	20
4.2.3.1	Digitalne meritve vlage	20
4.2.3.2	Digitalne meritve temperature.....	22
4.2.4	Natančnost meritev in primerjava z digitalnimi meritvami	23
4.2.5	Optimizacija EcoLabBox metod s polovičnimi vrednostmi.....	24
4.3	Primerjava kovčka EcoLabBox z ostalimi kovčki na trgu.....	26
5	SKLEPI.....	29
6	POVZETEK	31
7	SUMMARY	32
8	VIRI IN LITERATURA.....	33

KAZALO SLIK

Slika 1: Primer kemijske analize z uporabo kolorimetrije (foto: M. Globačnik, 2018)	5
Slika 2: Vsebina terenskega kovčka EcoLabBox (foto: M. Globačnik, 2018).	6
Slika 3: Fosfor v profilu tal (Vir: Pedologija, 1984)	9
Slika 4: Vzorčevalna sonda Winlab (foto: M. Globačnik, 2018).....	12
Slika 5: Postopek filtriranja ekstrakta pri določevanju pH tal (foto: M. Globačnik, 2018)	14
Slika 6: Ekstrakcija z magnetnim mešalom (foto: M. Globačnik, 2018).....	14
Slika 7: Merjenje temperature in vlage vzorca tal z elektronskim vmesnikom Vernier (foto: M. Globačnik, 2018).	15
Slika 8: Barvna lestvica za določanje koncentracije nitrata, proizvajalca EcoLabBox (foto: M. Globačnik, 2018)	18
Slika 9: Rezultat meritve pH vzorca T2 s celotnimi in polovičnimi vrednostmi BREZ filtracije (foto: M. Globačnik, 2018)	19
Slika 10: Rezultat meritve pH vzorca T1 po navodilih EcoLabBox in polovičnimi vrednostmi S filtracijo (foto: M. Globačnik, 2018)	19
Slika 11: Rezultat meritve pH vzorca T2 po navodilih EcoLabBox in polovičnimi vrednostmi S filtracijo (foto: M. Globačnik, 2018)	20
Slika 12: Rezultati meritve celih in polovičnih vrednosti vseh parametrov pri vzorcu T2 (foto: M. Globačnik, 2018)	26
Slika 13: Barvna lestvica za določanje koncentracije proizvajalca EcoLabBox (foto: M. Globačnik, 2018)	27
Slika 14: Barvna lestvica za določanje koncentracije proizvajalca Visocolor (foto: J. Krautberger, Medpodjetniški izobraževalni center Velenje, 2019).....	27

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Razporeditev tal po kislosti (vir: povzeto po Lehrbuch der Bodenkunde,1982).	7
Preglednica 2: Založenost tal s fosforjem (P_2O_5) po AL metodi in meje razredov (Praktična pedologija, 2010).	9
Preglednica 3: Vrednosti izmerjenih parametrov z uporabo EcoLabBox metod po priporočilih proizvajalca.....	17
Preglednica 4: Povprečne vrednosti meritev izmerjenih parametrov z uporabo EcoLabBox metod.....	17
Preglednica 5: Vlaga vzorca T2 in T3 ob odvzemu in po 24 urah s standardnim odklonom .	21
Preglednica 6: Primerjava vrednosti izmerjenih parametrov takoj in po 24 urah z uporabo EcoLabBox metod.....	22
Preglednica 7: Temperatura vzorca T2 in T3 ob odvzemu in po 24 urah s standardnim odklonom	22
Preglednica 8: Rezultati merjenja pH po EcoLabBox metodi in elektronskim vmesnikom	24
Preglednica 9: Primerjava nihanja med pH merjene z elektronskim vmesnikom in temperature	24
Preglednica 10: Polovične vrednosti izmerjenih parametrov z uporabo EcoLabBox metod ..	25
Preglednica 11: Povprečje polovičnih vrednosti izmerjenih parametrov z uporabo EcoLabBox metod.....	25
Preglednica 12: Preglednica hitrih testov in lastnosti.....	26

KAZALO GRAFOV

Graf 1: Rezultati merjenja vlage za sveže vzorčeno zemljo in zemljo sušeno 24 ur	21
Graf 2: Rezultati merjenja temperature za sveže vzorčeno zemljo in zemljo, sušeno 24 ur.	23

1 UVOD

Onesnaženost tal je obširna tema. Z neposrednim vplivom na okolje in posledično na zdravje ljudi, živali in rastlin je onesnaževanje tal pomemben problem, ki se je v industrijski dobi močno povečal. Tla so pomemben naravni vir, ki ga človek za svoje potrebe velikokrat čezmerno uporablja. Industrija, promet, kmetijstvo in urbanizacija so najpomembnejše dejavnosti, ki prispevajo k vnosu onesnažil v tla. Posledično so tla podvržena eroziji in fizikalno-kemijskim spremembam, ki povzročijo zakisanost in slanost tal. Intenzivno kmetijstvo npr. zahteva uporabo velike količine mineralnih gnojil in fitofarmaceutskih sredstev, ki pa lahko ostajajo v tleh dolgo časa, nekatera se tam kopičijo ter nato sproščajo v okolje. Primer za to so nitrati, ki so najmobilnejša oblika dušika v tleh. Zaradi njihove mobilnosti jih rastline najlažje sprejmejo iz talne raztopine, vendar se nitrati tudi hitro izpirajo iz površja tal v globlje plasti (Sušin, 2009). Degradacija tal je lahko hitra (nekaj let ali desetletij), medtem ko je potrebnih več tisoč let za njeno oblikovanje in regeneracijo. Rodovitnost tal tvori poleg biološke lastnosti tal še dva dejavnika: fizikalne in kemijske lastnosti tal. Slednje lastnosti se kažejo predvsem v vsebnosti glavnih rastlinskih hranil, kot so dušik, fosfor, kalij, kalcij, magnezij, žveplo ter vsebnost mikrohranil (Vrščaj, 2017).

1.1 Opredelitev problema

Izbira natančnejših metod in pravilno vzorčenje tal sta ključnega pomena za maksimalno-zanesljivo, optimalno in natančno izvajanje fizikalno-kemijskih analiz. V nasprotnem primeru se lahko rezultati preizkusov iste zemlje močno razlikujejo (Faber in sod., 2018). O slabih analitskih metodah na področju rodovitnosti tal v Sloveniji opozarja stroka v poročilu *»Strokovna in pravna izhodišča za vzpostavitev sistema zbiranja in obdelave podatkov preverjanja rodovitnosti tal (KRT)«*. V poročilu je predlagano enotno zbiranje in obdelave podatkov preverjanja rodovitnosti tal. Poudarek je na potrebi ureditve in poenotenju analiz v Sloveniji, s čimer bi dosegli lažji pregled in dostop podatkov (Vrščaj in sod., 2011). Boljšo metodo izberemo, manj napak lahko naredimo. Pomemben je tudi čas, ki ga za izvajanje analiz potrebujemo. Zato se v laboratorijih in tudi na terenu izvajalci analiz velikokrat odločajo za hitre, predpripravljene teste. Z njimi v realnem času in na mestu dobimo rezultate, ki so tudi zanesljivi in konkurenčni ostalim laboratorijskim testom.

Rodovitnost tal se ne zmanjšuje v krajšem časovnem obdobju, lahko pa se hitro zmanjša, če v tleh ne nadomeščamo rastlinskih hranil. Gnojenje je torej nujni ukrep nadomeščanja odvzetih hranil in s tem ohranjanja rodovitnosti tal (Vrščaj, 2017). Danes je na trgu veliko hitrih testov za različne analize in matrikse - eni so primerni za vodo, drugi za tla, spet nekateri za oboje. Razlikujejo se tako po ceni, kot tudi po tem, kateri parameter lahko določajo. Imajo različne razpone, od česar je odvisna natančnost rezultatov, zato je pomembno, da pred izvajanjem analiz premislimo, kateri hitri test izbrati.

1.2 Namen in cilji

Namen diplomske naloge je bilo ugotoviti, ali je kolorimetrična EcoLabBox metoda učinkovita za hitro kemijsko analizo tal in kakšne so možnosti za izboljšavo postopka merjenja posameznih parametrov.

Glavni cilj je bila vpeljava optimizirane metode za testiranje kemijskih parametrov na terenu z uporabo terenskega kovčka EcoLabBox. Po EcoLabBox metodah smo določevali različne parametre v tleh: vrednost pH, vsebnost nitratov, nitritov, fosfatov ter amonija. Meritve smo opravili v laboratoriju VŠVO na komercialni univerzalni zemlji (opis v poglavju 3.1.1.) in na zemlji odvzeti na tleh iz okolja (izbrali smo 2 merilni mesti). Metodo smo nato poskusili optimizirati z vidika manjše porabe reagentov in jo preizkusili na dveh realnih terenskih vzorcih zemlje ter primerjali z originalno metodo. Nato smo v zadnjem delu primerjali EcoLabBox metodo z drugimi hitrimi testi zai merjenje enakih parametrov na terenu ter na

podlagi primerjav ugotovili ustreznost naše optimizirane metode za uporabo na terenu oziroma predlagali izboljšave in možnosti za še natančnejše izvajanje meritev.

1.3 Hipotezi

H1: Optimizirana metoda merjenja kemijskih parametrov z EcoLabBox terenskim kovčkom je primerna za izvajanje analiz tal na terenu, saj se rezultati le-te od originalne EcoLabBox metode ne razlikujejo.

H2: Testi po metodi EcoLabBox so v primerjavi z drugimi hitrimi testi tehnično najmanj zapleteni ter časovno in ekonomsko upravičeni.

2 KEMIJSKA ANALIZA TAL

Tla so kot naravna dobrina potrebna za pridelavo hrane, industrijskih surovin in pridobivanje energetskih virov. Zelo pomembno je ohraniti njeno kakovost, ne samo za nas, ampak tudi za naše zanamce, saj je od ohranjenosti danes odvisna kvaliteta našega življenja. Tla so z vidika varovanja okolja izjemnega pomena, saj so kot sestavni del okolja ključna v procesih čiščenja voda, vezave atmosferskega ogljika, kroženja organske snovi, so osnova biotske pestrosti ter osnovni naravni vir, ki omogoča pridelavo hrane in biomase. Še posebej je varovanje in trajnostno upravljanje s tlemi pomembno ob naraščajočih potrebah prebivalstva, podnebnih spremembah in vedno obširnejših degradacijah tal. Zato se na državnih nivojih opravljajo redni monitoringi kakovosti tal (Zupan in sod., 2008).

V Sloveniji Agencija RS za okolje (ARSO), ki je organ v sestavi Ministrstva za okolje in prostor, vodi na področju tal naslednje postopke: izdaja pooblastila za izvajanje obratovalnega monitoringa skladno s »Pravilnikom o obratovalnem monitoringu«, vodi seznam pooblaščenecv za izvajanje obratovalnega monitoringa, zbira in obdeluje poročila o obratovalnih monitoringih ter izdaja dovoljenja za vnos blata čistilnih naprav, komposta ali mulja v tla v soglasju z MKGP (Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano) v skladu z »Uredbo o vnosu nevarnih snovi in rastlinskih hranil v tla« (Agencija RS za okolje, 2018).

V preteklosti je z uporabo različnih analiznih metod namreč postajalo vse bolj jasno, da je za primerjavo rezultatov meritev potreben enoten nabor testnih metod. Veliko je bilo odstopanj med laboratorijskimi postopki in metodami. V ta namen je bil v ZDA leta 1992 izveden projekt SERA-IEG-6 15, ki je zajemal in opisoval referenčne postopke za laboratorije za preskušanje tal v južni regiji ZDA. Vključene so bile tudi metode natančnosti pri napovedovanju odgovorov pridelka in splošna sprejemljivost za delavce na področju preskušanja tal. Med drugimi so razvili terenske kovčke za testiranje različnih parametrov na področju kakovosti tal, z namenom omogočiti učinkovito rokovanje uporabnikom in zagotoviti dostopnejše podatke na terenu (Kovar in sod. 2009).

Testov poznamo danes več vrst in temeljijo na različnih kemijskih metodah ali pa so največkrat primerni za specifični medij - vzorec.

2.1 Zakonodaja v Sloveniji

Na državnem nivoju analize in podatke o stanju okolja pridobiva ARSO. Opravlja strokovne, analitične in regulatorne oziroma upravne naloge s področja okolja na nacionalni ravni. Poslanstvo agencije je spremljanje, analiziranje in napovedovanje naravnih pojavov in procesov v okolju ter zmanjševanje naravne ogroženosti ljudi in njihovega premoženja. Agencija je zadolžena tudi za spremljanje onesnaženosti okolja in zagotavljanje kakovostnih javnih okoljskih podatkov. V ta namen razpolaga z ustrezno merilno mrežo in laboratoriji (Zupan in sod., 2008).

Zakonska podlaga za stanje tal temelji na »Zakonu o varstvu okolja« (ZVO; Ur. l. RS, 32/93, ki sta ga nasledila Ur. l. RS, 41/04 in 39/06). Vsebuje splošne ukrepe in osnovne metode varstva okolja in rabe naravnih virov. Po »Zakonu o varstvu okolja« je Slovenija dolžna izvajati spremljanje stanja okolja, kar je opredeljeno v 96. členu – monitoring okolja (Uredba o stanju tal, 2016).

Na Centru za pedologijo in varstvo okolja proučujejo procese v sistemu tla – rastlina – talna voda – podtalnica. Delujejo na Oddelku za agronomijo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani, kjer razpolagajo z obsežno geokodirano bazo podatkov o tleh Slovenije, ki zagotavlja širino in kvaliteto bazičnega in aplikativnega raziskovalnega dela (Zupan in sod., 2008).

V Sloveniji so raziskave onesnaženosti tal izvajali že v preteklosti. Pogoste so bile v 70. letih prejšnjega stoletja, omejene pa so bile na bolj problematična in industrijsko onesnažena območja. Raziskave so pokazale, da tla v Sloveniji večinoma niso močno onesnažena. V letu 2006 je bila sprejeta »*Resolucija o nacionalnem programu varstva okolja*« (ReNPVO). Za področje varovanja tal je za obdobje 2005 - 2012 določila dva pomembna cilja: do leta 2008 zaključiti s prvim pregledom stanja onesnaženosti tal v Sloveniji in na državnem nivoju vzpostaviti trajno spremljanje kakovosti tal (monitoring).

Na evropskem nivoju je bila sprejeta »*Tematska strategija za varstvo tal*«, katere predlog je bil pripravljen septembra 2006 in predstavlja politični okvir za doseganje visoke stopnje zaščite tal v Evropi. Strategija obsega dva dokumenta in sicer »*Predlog Direktive o določitvi okvira za varstvo tal in spremembi Direktive 2004/35/ES*« ter »*Presoja vplivov tematske strategije za varstvo tal*« (Zupan in sod., 2008).

2.2 Metode v analizi kemiji

Rezultati analitičnih raziskav so potrebni pri vseh človekovih dejavnostih. Neizogibne so pri sprejemanju odločitev v okoljski kemiji, kmetijstvu, gozdarstvu, veterinarstvu, farmacevtski industriji in biokemiji. Brez analitičnih meritev ni mogoče oceniti kakovosti materialov in izdelkov, zato je analizna kemija bistveni del tehničnih ved in disciplin (Kaštelan-Macan, 2008).

Del analizne kemije je klasična analiza, ki zajema metode:

- absolutna metoda: volumetrija, gravimetrija,
- instrumentalna analiza: široko koncentracijsko območje 10^{-1} mol/L do 10^{-10} mol/L.,
- relativna metoda: kalibracija.

Večina analiz se danes opravi z instrumentalnimi metodami. Tehnike, kot so absorpcijska in emisijska spektroskopija, različne elektrokemijske metode, masna spektrometrija, plinska in tekočinska kromatografija, termične in radiokemijske metode, zavzemajo več kot 90% analitskega dela. Vzrok za takšno visoko uporabo v laboratorijih je ta, da so instrumentalne metode dosti bolj natančne kot klasične – spektrometrija lahko določi več elementov istočasno v zelo nizkih koncentracijah. V kombinaciji z ostalimi metodami se lahko določi tudi več komponent. So pa instrumentalne metode tudi hitrejše in cenejše kot klasične metode. Večina instrumentalnih metod je avtomatizirana in nudi dobro povezavo z računalniki (Brodnjak Vončina, 2006).

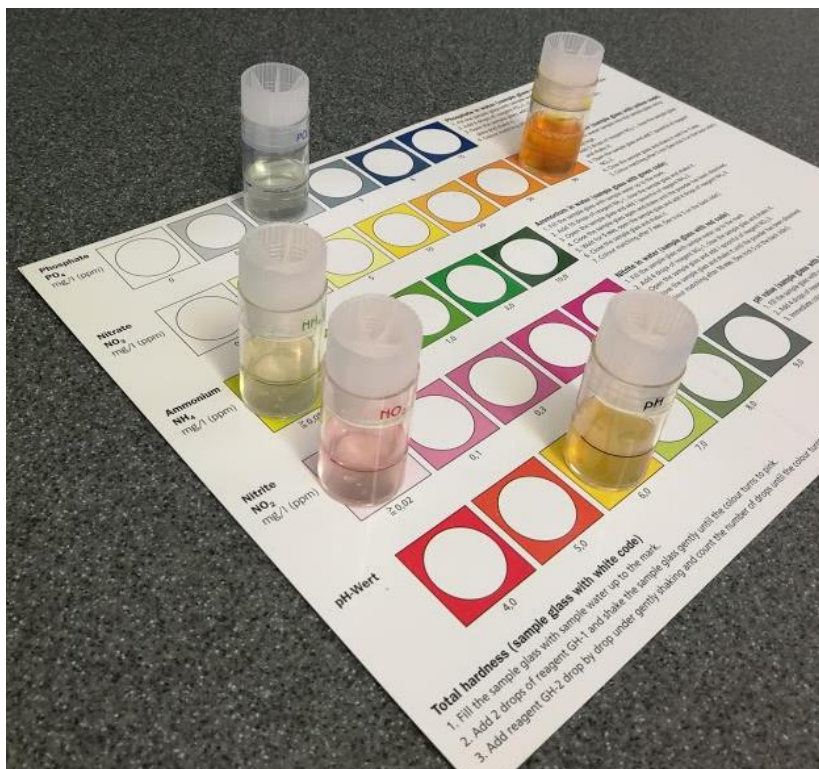
Instrumentalne analize zajemajo več metod, ločijo pa se glede na vrsto analitičnega signala. Delimo jih v pet skupin:

- optične metode,
- elektroanalizne metode,
- termične metode,
- separacijske metode,
- RIA (radioimunski test) metode (Pivk, 2011).

2.2.1 Kolorimetrija

V fizikalni in analizni kemiji je kolorimetrija tehnika, s katero določamo koncentracijo obarvanih komponent v raztopini. Je enostavna analitska metoda, ki spada med optične-spektroskopske metode. Temelji na merjenju intenzitete barve v vidnem delu spektra (Slika 1). Kolorimetrične meritve se imenujejo kolorimetri in omogočajo vizualno primerjavo raztopin barvne trdnosti z znano in neznano koncentracijo. Princip je uporaben za merjenje različnih ionov in ostalih fizikalno-kemijskih parametrov v vzorcu, kjer poteče specifična kemijska reakcija, katere produkt je značilno obarvan. Če v vzorcu ni določene substance, ki jo želimo

določiti, reakcija ne poteče, v nasprotju pa, če je substanca prisotna, dobimo pozitivno barvno reakcijo. Količina prisotnih komponent se določa na podlagi intenzitete barve (Hiskey, 1949).



Slika 1: Primer kemijske analize z uporabo kolorimetrije (foto: M. Globačnik, 2018)

2.3 Hitri testi

Storitev preskušanja tal v zasebnih laboratorijih je lahko draga, hkrati pa se lahko na rezultate čaka tudi po več tednov, nasprotno pa so komercialni testni seti bolj dostopni. So tudi ekonomsko upravičeni, saj je set namenjen več preskusom, hkrati pa se rezultati lahko pridobijo hitro, v enem dnevu (Faber in sod., 2018).

Pri kemijskih analizah različnih medijev, tudi tal, se tako v laboratoriju velikokrat srečujemo tudi z uporabo hitrih testov, ki so primerni za uporabo na terenu in nam omogočajo hitro ter enostavno določitev kemijskega stanja izbranega medija.

Hitri testi se lahko uporabljajo v analiznih in raziskovalnih laboratorijih tudi za pridobitev hitrih, preliminarnih rezultatov kemijskih lastnosti tal, zaradi enostavnosti in dostopnosti testov pa so lahko primerni tudi za domačo uporabo (npr. kmetovalce). Rezultati analize tal nam omogočijo, da ugotovimo, ali je testiran medij preveč ali premalo gnojen in ali so tla preveč ali premalo kislila, ... odvisno od parametra, ki ga določamo. Za kmetovalce in vrtničarje so to pomembni podatki, saj lahko na podlagi rezultatov zagotavljajo gojenje pridelka na tleh ustrezne kemijske kakovosti. V kolikor hitri testi pokažejo odstopanja od priporočenih vrednosti kemijskih parametrov, je potrebno tla testirati z natančnejšimi standardiziranimi analiznimi metodami.

2.4 EcoLabBox

EcoLabBox je mobilni laboratorijski kovček za izvajanje okoljskih poskusov na terenu. Omogoča enostaven dostop do okoljskih preiskav. Zajema analize kakovosti zraka, vode in zemlje. Skupaj vsebuje 21 različnih testov. Vsi reagenti so razvrščeni kot "neškodljivi za okolje", zato jih je mogoče odstraniti v umivalniku. EcoLabBox vključuje testne pripomočke za delo zunaj na terenu ali v laboratoriju. Pri izvedbi analiz na terenu daje prve podatke v realnem času ter okvirno oceno kemijskega stanja na terenu. Za prikaz koncentracije makronutrientov in pH vzorcev se uporablja metoda kolorimetrije. Pri tej metodi se koncentracijo parametra v raztopini določi s pomočjo barvnega reagenta. Po pretečenem času, predpisanim za potek reakcije, se razvije ustrezna barva, ki je sorazmerna koncentraciji iskanega parametra v vzorcu. Le-to nato določimo s pomočjo priložene barvne lestvice. Pri analizah vode ima razpon za pH vrednost do 9, vrednost nitrata do 80 mg/L, nitrit do 1,0 mg/L, amonija do 10 mg/L ter fosfata do 6 mg/L. Za meritve tal pa je razpon pH-ja v tleh do 9, nitrata do 80 mg/L, amonija do 10 mg/L ter fosfata do 6 mg/L (Medmrežje 1).

EcoLabBox terenski kovček vsebuje različne pripomočke za večkratno uporabo in reagente za približno 100 analiz (Slika 2):

- specifične reagente za določanje fizikalno kemijskih parametrov,
- barvni diagram za določanje vrednosti preizkusa za vsak parameter,
- stojalo za filter za varne filtrske preizkuse v škatli,
- povečevalna stekla za lažje določanje majhnih živali,
- posebna pinceta za opazovanje majhnih živali,
- filtrirni papir za pripravo raztopin za ekstrakcijo tal,
- steklenici za vzorce (100 ml in 250 ml),
- čaša,
- plastične pipete.



Slika 2: Vsebina terenskega kovčka EcoLabBox (foto: M. Globacnik, 2018).

2.5 Kolorimetrična določitev parametrov v tleh

2.5.1 Kolorimetrično določanje pH vrednosti

Vrednost pH je merilo koncentracije vodikovih ionov. Je vrednost, s katero merimo kislost tal. Vpliva na topnost, s tem pa tudi na dostopnost anorganskih nevarnih snovi v zemlji (Alloway, 1990). Ker kislost tal variira, ločimo različne stopnje kislosti tal, kot so prikazane v Preglednici 1.

Preglednica 1: Razporeditev tal po kislosti (vir: povzeto po Lehrbuch der Bodenkunde, 1982).

Tla	pH območje
ekstremno kislá	<3,0
zelo močno kislá	3,0-3,9
močno kislá	4,0-4,9
kislá	5,0-5,9
rahlo kislá	6,0-6,9
nevtralna	7,0
rahlo bazična	7,1-8,0
bazična	8,1-9,0
močno bazična	9,1-10,0
zelo močno bazična	10,1-11,0
ekstremno bazična	>11,0

V Sloveniji se pH tal giblje od 3,8 (ekstremni primeri) do 7,8 – 8. Najbolj pogost je pH tal 5 – 7,5. Vzroki za kislost tal so lahko izločanje CO₂ kot posledica dihanja, humifikacija organske snovi, oksidacija reduciranih spojin žvepla, izpiranje baz, izločanje H⁺ ionov rastlinskih korenin, gnojenje (Stritar, 1984).

Vrednost pH lahko določamo kolorimetrično (uporaba pH indikatorjev) in elektrometrično (Grčman in Zupan, 2010). Kolorimetrična določitev vrednosti pH temelji na določevanju koncentracije vodikovih ionov. Posebna mešanica indikatorskih barvil ima značilno barvo za vsako pH vrednost. Ugodno razmerje med količino vzorca in količino kazalnika zmanjša napako indikatorja. Visoke vsebnosti nevtralnih soli in koloidov ter koncentracij organskih topil nad 10% lahko povzročijo napačne rezultate. Na pH lahko vpliva tudi temperatura, saj se pri povišanju temperature H⁺ ion prav tako poveča, kar vodi do zmanjšanja pH. Tako imamo npr. pri merjenju vode pri 0° C pH vrednost 7,47, ista voda pri 100° C pa bo imela pH 6,14 (Medmrežje 2). Poleg osnovnih obstajajo tudi univerzalni indikatorji, ki so mešanice osnovnih indikatorjev. Barva se zvezno spreminja v določenem razponu. Eden takih indikatorjev je indikator po Yamadi, japonskem kemiku, ki je pripravil to mešanico. K vsakemu indikatorju sodi ustrezna barvna skala, s katero določimo pH vzorca. Ločimo tekočinske in papirne indikatorje. Z indikatorji lahko določimo kislost tal od 0.5 do 0.2 enoti natančno (Grčman in Zupan, 2010).

EcoLabBox metoda merjenja pH narekuje uporabo enega indikatorskega reagenta (pH-1) in za primerjavo barve oziroma določitev vrednosti pH uporablja papirne indikatorje v razponu 4,0 in 9,0.

2.5.2 Kolorimetrično določanje nitrata

Dušik je najpomembnejši element v prehrani rastlin. Rastline sprejemajo dušik v obliki nitrata (NO_3^-) ali amonijevega iona (NH_4^+). Zaradi intenzivne nitrifikacije v tleh, ob prisotnosti bakterij, je nitrat (NO_3^-) prevladujoča oblika dušika, ki jo sprejme rastlina. Glavni vir nitrata v tleh so gnojila. Nitrat je v zemlji zelo mobilan in se pri določenih klimatskih pogojih ter strukturi tal spira v podtalnico (Kmetijski inštitut Slovenije, 2018). Nekatere analize, kot je določanje mineralnih oblik dušika v tleh (metoda s hitrimi nitratskimi testi) oziroma določanje nitrata v rastlinah, nam omogočajo, da se količine dušikovih gnojil še zmanjšajo (Grčman in Zupan, 2010).

Kolorimetrična določitev vrednosti nitrata temelji na redoks reakciji. Nitrat se z anorganskim reducentom reducira na nitrit. Nitrit se nato diazotizira z aromatskim aminom, kjer pride do razvoja barve (Griessova reakcija). Poleg zgolj geoloških vplivov se lahko koncentracije nitrata povečajo tudi zaradi gnojil iz kmetijskih virov (Medmrežje 3).

EcoLabBox metoda merjenja nitrata narekuje uporabo dveh indikatorskih reagentov (NO_3 -1 in NO_3 -2) in mogoča določitev koncentracije nitrata v talni ali vodni raztopini v razponu od 0 do 80 mg/L (ppm).

2.5.3 Kolorimetrično določanje nitrita

Nitrifikacija je biološka oksidacija amonijeve oblike dušika do nitrata. Proces poteka v dveh stopnjah. Najprej se amonijev ion oksidira do nitrita, nato pa bakterije iz rodu *Nitrobacter* oksidirajo nitrit do nitrata. Vse omenjene bakterije so aerobne, zato se v zamočvirjenih in prevlažnih tleh proces ustavi. Optimalna temperatura je 26 °C, ugoden pH pa nevtralen do rahlo kisel (Mengel in Kirkby, 1987).

Kolorimetrična določitev vrednosti nitrita temelji na diazotiranju sulfanilamida z nitritom (Griessova reakcija). Pogoj za to je kislina raztopina. Diazonijeva sol se nato poveže z aromatskim aminom, ki tvori intenzivno obarvano azo barvilo. Organski koloidi, klor, huminske kisline in barvni ioni težkih kovin lahko vplivajo na rezultat (Medmrežje 4).

EcoLabBox metoda merjenja nitrita narekuje uporabo dveh indikatorskih reagentov (NO_2 -1, in NO_2 -2) in omogoča določitev koncentracije nitrita v talni ali vodni raztopini v razponu med $\geq 0,02 - 1,0$ mg/L (ppm).

2.5.4 Kolorimetrično določanje amonija

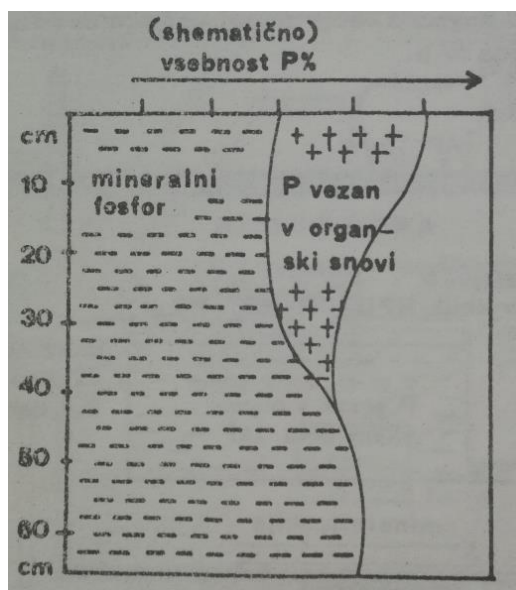
Dušik se v tleh nahaja v topni obliki, kot NO_3^- in NH_4^+ , največjo zalogo pa predstavlja organsko vezan dušik (97-98%). Pri razgradnji organske snovi v tleh se sprošča dušik v obliki NH_3 (mineralizacija). Stopnja mineralizacije je odvisna od razmerja ogljik : dušik (Grčman in Zupan, 2010).

Kolorimetrična določitev vrednosti amonijevih ionov se izvaja v alkalnem mediju, kjer amonijevi ioni reagirajo s klorom in nastane kloroamin, ki v prisotnosti katalizatorja tvori modro obarvan indofenol s fenoli (reakcijska osnova po DIN 38406-E5) (Medmrežje 5).

EcoLabBox metoda merjenja nitrita narekuje uporabo treh indikatorskih reagentov (NH_4 -1, NH_4 -2 in NH_4 -3) in mogoča določitev koncentracije amonija v talni ali vodni raztopini v razponu med $\geq 0,05 - 10$ mg/L (ppm).

2.5.5 Kolorimetrično določanje fosfata

Vsega fosforja je v tleh do globine 20 cm 600-4500 kg/ha (Slika 3). Največji delež fosforja v tleh se nahaja v obliki anorganskih soli (fosfatov) in organskih spojin (Grčman in Zupan, 2010). Po »Uredbi o mejnih vrednostih vnosa nevarnih snovi in gnojil v tla« je ta mejna vrednost letnega vnosa 120 P₂O₅ kg/ha (Uredba o mejnih vrednostih vnosa nevarnih snovi in gnojil v tla, Uradni list RS, št. 84/05). Količina skupnega fosforja v tleh znaša 0,02 – 0,08% P (1% P = 2,29% P₂O₅). Zastopan je v organskem in anorganskem delu tal. Na delež fosfatov v tleh vpliva tudi kislost tal. Za fosfate je najbolj ugoden pH 6 (Grčman in Zupan, 2010).



Slika 3: Fosfor v profilu tal (Vir: Pedologija, 1984)

Po AL (amonijeva - laktatna metoda) metodi je založenost tal s fosforjem razdeljena v 5 razredov (Preglednica 2). Temelji na dodajanju ekstrahentov, ki so sposobni zaradi prebitka kationske vrste zamenjati adsorbirane katione v tleh. Tla z deležem fosforja nižjim od 6mg/100g tal so siromašna (stopnja A), od 6 – 12 mg/ 100g tal srednje preskrbljena (stopnja B), od 13 – 25 mg/ 100g tal dobro preskrbljena (stopnja C), od 26 – 40 mg/ 100g tal čezmerno preskrbljena, kar pa je nad 40 mg/ 100g tal pomeni, da so tla ekstremno preskrbljena. Najbolj ugodna je stopnja C in je ob takšni nasičenosti tal s fosforjem cilj dosežen, kar pomeni da ga ni v primanjkljaju, niti v pribitku (Praktična pedologija, 2010).

Preglednica 2: Založenost tal s fosforjem (P₂O₅) po AL metodi in meje razredov (Praktična pedologija, 2010).

stopnja	mg P ₂ O ₅ / 100 g tal	stanje preskrbljenosti tal
A	< 6	siromašno
B	6 - 12	srednje preskrbljeno
C	13 - 25	dobro
D	26 - 40	čezmerno
E	> 40	ekstremno

Kolometrična določitev vrednosti fosfata poteka tako, da amonijev molibdat reagira s fosfatnimi ioni in tvori fosfomolibdinsko kislino, ki se reducira v molibden modro obliko (Reakcija po DIN EN ISO 6878-D11) (Medmrežje 6). Standard določa metode za določanje ortofosfata, ortofosfata po ekstrakciji s topilom, hidrolizabilni fosfat plus ortofosfat in skupni fosfor po razgradnji. Postopek ekstrakcije s topilom omogoča določanje manjših koncentracij fosforja z mejo zaznavnosti okoli 0,000 5 mg / l.

EcoLabBox metoda merjenja fosfata narekuje uporabo dveh indikatorskih reagentov ($\text{PO}_4\text{-1}$ in $\text{PO}_4\text{-2}$) in mogoča določitev koncentracije fosfata v talni raztopini v razponu med 0 – 15mg/L (ppm). Rezultati nam povedo koncentracijo fosfata v talni raztopini v mg/ml, kar ni neposredno primerljivo z rezultati analiz z Al metodo, saj le-tam določimo količino v enotah mg P_2O_5 / 100 g tal.

3 MATERIALI IN METODE

Pri izdelavi diplomskega dela smo uporabili:

- **Deskriptivno metodo:** preučili smo domače ter tuje (sekundarne in primarne) vire s pomočjo interneta in knjižničnega gradiva.
- **Eksperimentalno metodo:** z uporabo EcoLabBox terenskega kovčka smo z določevanjem vrednosti pH, temperature, vsebnosti nitratov, nitritov, amonija ter fosfatov analizirali tri različne zemlje. Prva je bila komercialna univerzalna zemlja (vzorec T1),- drugi dve pa sta bili realna okoljska vzorca iz dveh lokacij v Šaleški dolini (vzorca T2 in T3). Ugotavljali smo ustreznost hitrih testov (v našem primeru EcoLabBox metod) pri določevanju pomembnejših fizikalno-kemijskih parametrov v tleh. Metodo smo poskusili tudi optimizirati z namenom zagotavljanja natančnosti, zmanjšanja porabe reagentov in količine vzorca.
- **Primerjalno metodo:** v zadnjem delu diplomske naloge smo EcoLabBox hitre teste primerjali z nekaj drugimi hitrimi testi na trgu, ki so primerni za delo na terenu in analizo tal.

Eksperimentalno delo je potekalo v novembru in decembru 2018 na dveh vzorčnih mestih v Šaleški dolini in v laboratoriju Visoke šole za varstvo okolja. Del zemlje smo odvzeli za izvajanje analize po navodilih EcoLabBox priročnika, preostanek pa smo pripravili za izvajanje digitalnih meritev. Z namenom testiranja priporočenih pogojev dela smo namreč z digitalnim vmesnikom Vernier (LabQuest 2) dodatno kontinuirno spremljali spremembo vlage in temperature v 24 urah. Meritve so se izvajale v 15-minutnih intervalih. Analizo na isti zemlji smo tako ponovili po 24 urah in preverili, ali sprememba vlage in temperature zemlje vplivata na rezultate.

Vzporedno smo izvajali tudi meritve s polovičnimi vrednostmi reagentov z namenom optimizacije metod. Vse rezultate meritev smo si sproti zapisovali. Po končani izvedbi eksperimentalnega dela smo rezultate zbrali, pregledali in analizirali v programu Microsoft Office Excell.

3.1 Vzorčenje

3.1.1 Komercialna univerzalna zemlja (T1)

Univerzalna zemlja je namenjena za sajenje in presajanje vseh vrst rastlin (zemljo je doniralo podjetje Humko). Uporabljamo jo lahko za notranje in zunanje rastline ter pripravo tal na vrtu. Sestavljena je iz pH nevtralne šote, ki skrbi za uravnoteženo oskrbo rastlin z vodo.

3.1.2 Zemlji iz realnega okolja (T2 in T3)

Testirali smo tudi vzorce tal iz realnega okolja - na dveh lokacijah, ki smo ju označili "realno okolje". Gre za vrtna, aktivna tla, na katerih se gojijo različne vrste vrtnih kultur. Prekopava se ju jeseni, ko se tudi pognoji s kravjim gnojem. Vsaka tri leta se dodaja med prekopavanjem tudi domači kompost. Škropiva se uporabljajo le po potrebi, v primeru zatiranja škodljivcev. Le-ta so na biološki osnovi. V letu 2018 se škropiv ni uporabilo na nobenem zemljišču. Obdelava tal med letom poteka enako na obeh vzorčnih mestih. Vzorčno mesto T2 se nahaja na Konovem, T3 pa v Šoštanju.

Za vsako analizo smo na obeh vzorčnih mestih vzeli sveže vzorce tal. Vzorčenje je potekalo po postopku, ki ga je določil Inštitutu za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije: na

posameznem odvzemnem mestu smo sondo zapičili v tla, zavrteli in vzorec v sondi potegnili ven. S palico smo postrgali vso zemljo iz sonde v čisto posodo. Postopek smo ponovili 20x, po celotnem območju vzorčenja. Vzorčenje smo opravili s sondo Winlab podjetja RoMiks. Vzorec tal smo nato hranili v zaprto posodo in ga takoj prenesli v laboratorij za izvedbo vseh meritev. Takoj po vzorčenju na dveh vzorčnih mestih smo izvedli meritve temperature in pH vzorcev.

Meritve smo izvajali z vmesnikom Vernier. Izvedli smo takojšnje meritve vzorcev ter nato kontinuirno meritve vsakih 15 minut v času 24 ur.



Slika 4: Vzorčevalna sonda Winlab (foto: M. Globačnik, 2018)

3.2 Testiranje EcoLabBox metod

Tri vzorce smo testirali po navodilih EcoLabBox, ki so bila priložena h kovčku za izvajanje analiz. Pred začetkom analiz je bilo potrebno zemljo, ki smo jo prinesli v laboratorij, ustrezno pripraviti za nadaljnjo uporabo. Raztopino (ekstrakt), ki jo pripravimo, se nato uporabi pri vseh meritvah, zato je pomembno, da smo pri delu natančni, saj lahko v nasprotnem primeru raztopine zmanjka za vse analize in se celotno testiranje ne more izvesti. Za vsak vzorec smo izvedli po 3 ponovitve poskusov.

V čaši smo zmešali 10 ml ekstrakcijskega pufru z 90 ml destilirane vode. Posebej smo zatehtali 10 g svežega vzorca. Pripravljeno mešanico smo dodali vzorcju, zaprli in stresali (ekstrahirali) 5 min. Zmes smo nato prefiltrirali. V filtriranem ekstraktu smo nato testirali vse fizikalno-kemijske parametre, ki jih EcoLabBox terenski kovček omogoča: testiranje nitratov, nitritov, amonija in fosfatov v zemlji. Za določitev pH je bilo potrebno ekstrakt pripraviti posebej (poglavje 3.2.1).

3.2.1 Določitev pH

V čaši smo zmešali 25 ml ekstrakcijskega pufru z 10 g zemlje. Pripravljeno mešanico smo zaprli in stresali eno minuto. Počakali smo, da se neraztopljeni delci posedejo na dno. Nato smo vzorčno stekleničko napolnili s pripravljenim vzorcem brez posedjenih delcev do oznake. Dodali smo 4 kapljice reagenta pH-1, zaprli stekleničko in pretresli. Stekleničko smo položili na barvno lestvico in primerjali barvo ter razbrali rezultat. Med izvajanjem meritev pH smo ugotovili, da neraztopljeni delci motijo kolorimetrično določitev vrednost pH. Prav tako EcoLabBox navodila svetujejo uporabo na zraku sušene zemljine. Zato smo se odločili postopek merjenja pH optimizirati. Po postopkih optimizacije (poglavje 3.3.) smo v nadaljevanju uporabili nesušeno zemljino in postopek dopolnili s filtriranjem.

3.2.2 Določitev vsebnosti nitratov

Vzorčno stekleničko smo napolnili z 5 ml ekstrakta s pomočjo brizge. Dodali smo 5 kapljic reagenta $\text{NO}_3\text{-1}$, zaprli posodico in pretresli. Dodali smo še 1 žličko reagenta $\text{NO}_3\text{-2}$. Po petih minutah smo položili stekleničko na barvno lestvico, primerjali barvo ter razbrali koncentracijo nitrata v talni raztopini v mg/L.

3.2.3 Določitev vsebnosti nitritov

Pripravljeno zmes smo nalili v stekleničko do oznake. Dodali smo 4 kapljice reagenta $\text{NO}_2\text{-1}$, zaprli posodico in pretresli. Dodali smo še 1 žličko reagenta $\text{NO}_2\text{-2}$ ter stresali, dokler se prašek ni raztopil. Po 10 min smo položili stekleničko na barvno lestvico, primerjali barvo ter razbrali koncentracijo nitrita v talni raztopini v mg/L.

3.2.4 Določitev vsebnosti amonija

Pripravljeno zmes smo nalili v stekleničko do oznake. Dodali smo 10 kapljic reagenta $\text{NH}_4\text{-1}$, zaprli stekleničko in pretresli. Dodali smo 1 žličko reagenta $\text{NH}_4\text{-2}$. Po 5 min smo dodali še 4 kapljice reagenta $\text{NH}_4\text{-3}$ ter pretresli. Po 7 min smo položili stekleničko na barvno lestvico, primerjali barvo ter razbrali koncentracijo amonija v talni raztopini v mg/L.

3.2.5 Določitev vsebnosti fosfatov

Pripravljeno zmes smo nalili v stekleničko do oznake. Dodali smo 6 kapljic reagenta $\text{PO}_4\text{-1}$, zaprli in pretresli. Dodali smo 6 kapljic reagenta $\text{PO}_4\text{-2}$ in pretresli. Po 10 min smo položili stekleničko na barvno lestvico, primerjali barvo ter razbrali koncentracijo fosfata v talni raztopini v mg/L.

3.3 Optimizacija in nadgradnja EcoLabBox metod

Med testiranjem EcoLabBox metod smo optimizirali nekaj korakov, ki so po našem mnenju izboljšali zanesljivost rezultatov in izvedbo testov, morda celo natančnost.

3.3.1 Optimizacija posameznih korakov EcoLabBox metod

Vsako vprašanje, ki smo si ga zastavili med izvajanjem testnih analiz, smo preverili in nato vprašanje potrdili kot možnost izboljšanja postopka. Prvo optimizacijo smo naredili že na samem začetku. Ekstrakcijsko mešanico je bilo potrebno pred merjenjem pH prečistiti s filtracijo (Slika 5). Delci se namreč niso posedli na dno v celoti, zato je nastala motna raztopina in dobili smo nejasen rezultat. Pri vseh ekstrakcijskih postopkih smo zato dodatno uporabili postopek filtracije. Filter papir vsebuje že kovček EcoLabBox, saj se uporablja filtracija pri pripravi ekstrakta za ostale parametre, ni pa predviden za določitev vrednosti pH.



Slika 5: Postopek filtriranja ekstrakta pri določevanju pH tal (foto: M. Globačnik, 2018)

Druga optimizacija, ki smo jo uporabljali skozi testiranja, je bila vpeljava manjšega magnetnega mešala. Za pripravo ekstrakta je bilo potrebno zmes mešati pet minut. Z uporabo magnetnega mešala je bila ekstrakcija lažje izvedljiva (Slika 6).



Slika 6: Ekstrakcija z magnetnim mešalom (foto: M. Globačnik, 2018)

Za doseg bolj zanesljivih podatkov in optimizacije merjenja pH vrednosti z EcoLabBox metodo smo opravili meritve pH, temperature in vlage tudi z elektronskim vmesnikom Vernier. Z digitalnim merjenjem pH smo želeli potrditi oziroma preveriti ustreznost EcoLabBox metode, z merjenjem temperature in vlage v obsegu 24 ur pa smo ugotavljali vpliv vlage na določitev parametrov. Poleg takojšnjih elektronskih meritev pH in meritvah opravljenih po 24 urah je vmesnik Vernier kontinuirno znotraj 24 ur, na vsakih 15 minut, meril ostala dva parametra – T in vlago (Slika 7). Tako smo pridobili podatek, kako sta se parametra med obema meritvama spreminjala.



Slika 7: Merjenje temperature in vlage vzorca tal z elektronskim vmesnikom Vernier (foto: M. Globačnik, 2018).

3.3.2 Optimizacija EcoLabBox metod s polovičnimi vrednostmi

Pred začetkom testiranja smo si postavili izziv poskusa optimizacije postopkov - možnost opravljanja analiz s polovičnimi vrednostmi reagentov po navodilih EcoLabBox. Vse količine, ki so standardizirane in predpisane v navodilih, smo razpolovili. Naleteli smo na določena raziskovalna vprašanja - že pri sami razpolovitvi količin.

Pri reagentih, ki smo jih dodajali v količinah soda števila (npr. 6 kapljic, 4 kapljice...), ni bilo težav. Pri lihih količinah reagentov pa smo se odločili za uporabo večjih količin (npr. optimizacija iz 7 kapljic reagenta na 4), saj lahko reagent reagira le z razpoložljivimi vsebnostmi iskanih ionov. Kolikor reagenta je v prebitku, le-ta ne vpliva na rezultat.

Poskuse s polovičnimi vrednostmi smo vedno izvajali skupaj s poskusi s predpisanimi vrednostmi. Meritve smo izvajali na enem ekstraktu, hkrati smo zagotovili bolj zanesljivo primerljivost obeh testov.

pH pufer smo naredili po navodilih. Prav tako kot za ostale smo tudi tukaj imeli dovolj količine za obe testiranja hkrati- tudi za polovične vrednosti. Pripravljenemu puftru smo dodali 2 kapljici reagenta pH -1.

Pri določevanju nitratov smo vzorčno stekleničko napolnili z 2,25 ml zmesi. Nato je potrebno dodati po navodilih 5 kapljic reagenta NO_3 -1. Tu smo se pri polovičnih vrednostih odločili za 3 kapljice. V nasprotnem primeru, da bi reagentu dodali 2 kapljici, bi bil reagent v primanjkljaju in bi zaradi tega lahko bil rezultat napačen. Tudi 1 žličko reagenta NO_3 -2 smo razpolovili. Pri tem se je sicer postavilo vprašanje, ali smo lahko dovolj natančni, da bo rezultat primerljiv z predpisanimi količinami reagentov.

Pri določevanju nitritov smo 4 kapljice reagenta NO_2 -1 razpolovili, enako smo naredili pri 1 žlički reagenta NO_2 -2. Upoštevali smo polovico žličke.

Tudi pri določevanju amonijevih ionov smo imeli podoben izziv kot pri določevanju nitritov. Dodali smo 5 kapljic reagenta NH_4 -1, pol žličke reagenta NH_4 -2 ter po petih minutah 2 kapljici reagenta NH_4 -3.

Pri določevanju fosfata smo količine enostavno razdelili. Puftru smo dodali 3 kapljice reagenta PO_4 -1 in 3 kapljice reagenta PO_4 -2.

3.4 Primerjava EcoLab Box terenskega kovčka z drugimi proizvajalci

V okviru praktičnega dela diplomske naloge smo primerjali kovček EcoLabBox z nekaj drugimi kovčki, ki so dostopni na tržišču: JLB Combiset, Visocolor ter SKW500 CSK. Primerjali smo razpone, območja merjenj parametrov. Ker niso vsi kovčki namenjeni le za tla, smo zraven ugotavljali tudi, ali je njihova namembnost le izvajanje meritev tal ali pa je uporaben tudi za vodne vzorce.

4 REZULTATI Z DISKUSIJO

4.1 EcoLabBox metode - hitri testi za analizo tal

Rezultati hitrih testov po EcoLabBox metodah, priporočenih s strani proizvajalca, so pokazali, da so vse meritve za vsak vzorec in posamezen parameter enake. Opazili smo le eno odstopanje; pri vzorcu T3 smo dobili pH v 3. poskusu 6, medtem ko sta prva dva poskusa pokazala rezultat med 6-7 (Preglednica 3).

Pri ostalih parametrih ni bilo odstopanj, vse tri ponovitve pri vzorcih za vsak parameter so pokazale vedno enak rezultat. Povprečne vrednosti so podane v Preglednici 4. Standardni odklon ni podan, saj odstopanj ni bilo.

Preglednica 3: Vrednosti izmerjenih parametrov z uporabo EcoLabBox metod po priporočilih proizvajalca

		pH	Nitrati (mg/L)	Nitriti (mg/L)	Amonij (mg/L)	Fosfati (mg/L)
T1	1.	6	50	$\geq 0,2$	3	0,5
	2.	6	50	$\geq 0,2$	3	0,5
	3.	6	50	$\geq 0,2$	3	0,5
T2	1.	6-7	1	$\geq 0,2$	3	1,5
	2.	6-7	1	$\geq 0,2$	3	1,5
	3.	6-7	1	$\geq 0,2$	3	1,5
T3	1.	6-7	1	$\geq 0,2$	3	1,5
	2.	6-7	1	$\geq 0,2$	3	1,5
	3.	6	1	$\geq 0,2$	3	1,5

Preglednica 4 prikazuje povprečje vseh treh vrednosti posameznih parametrov za vzorce T1, T2 in T3, izmerjenih z uporabo EcoLabBox metod. Vidimo lahko, da se pri določenih parametrih pojavijo razlike v vrednostih rezultatov (pH, nitrati in fosfati). Vzorca T2 in T3 imata enake rezultate vseh parametrov. Razlika je le v pH-ju, do te razlike pa pride zaradi 3. poskusa pri vzorcu T3. Zaradi takšne minimalne razlike lahko posplošimo, da so si rezultati parametrov pri T2 in T3 enotni.

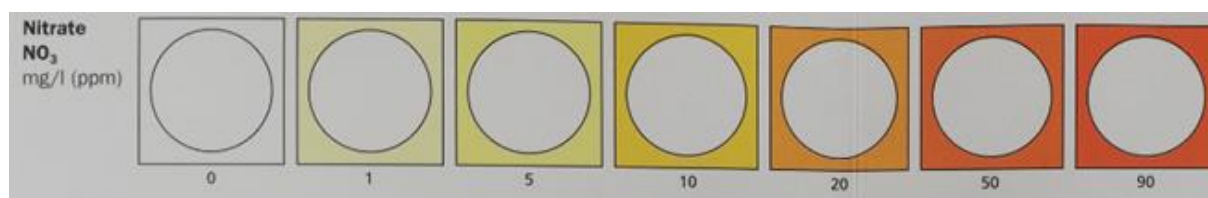
Preglednica 4: Povprečne vrednosti meritev izmerjenih parametrov z uporabo EcoLabBox metod

	pH	Nitrati (mg/L)	Nitriti (mg/L)	Amonij (mg/L)	Fosfati (mg/L)
T1	6	50	$\geq 0,2$	3	0,5
T2	6,5	1	$\geq 0,2$	3	1,5
T3	6,3	1	$\geq 0,2$	3	1,5

Komercialna zemlja (vzorec T1) se razlikuje od realnih vzorcev iz okolja (T2 in T3). Če primerjamo povprečje rezultatov vzorca T1 z vzorcema T2 in T3 (Preglednica 4), lahko opazimo, da se rezultati razlikujejo v parametrih: pH, nitrati in fosfati.

Vrednost pH pri vzorcu T1 je 6, kar pomeni, da je vzorec rahlo kisel, rezultat vzorca T2 in T3 pa nam pove, da je pH vzorca rahlo kisel-nevtralen. Meritve pH z EcoLaBox metodo po naših opažanjih ni zelo natančna, saj nam barvna lestvica ne omogoča natančne določitve vrednosti. Zato težko trdimo, da se vrednost pH komercialne zemlje bistveno razlikuje od realnih vzorcev. Fosfata je v vzorcu T1 0,5 (mg/L), medtem ko ga je v vzorcu T2 in T3 1,5 (mg/L). Rezultat pri T1 nam kaže, da komercialna zemlja vsebuje manj fosfatov kot zemlja iz okolja.

Bistvena razlika med vzorci se je pojavila pri merjenju vsebnosti nitrata. Pri vzorcu T1 smo dobili rezultat 50 (mg/L), medtem ko pri vzorcu T1 in T2 1 (mg/L). Slika 8 prikazuje barvno lestvico za določanje koncentracije nitrata. Vidimo lahko, da je razpon med rezultatoma, ki smo ju dobili pri vzorcih, razmeroma velik. Med 1 in 50 mg/L imamo še 3 stopnje; tako se T1 znajde na začetku lestvice vsebnosti nitrata. Rezultat, dobljen pri vzorcu T1, je pričakovan, saj gre za substrat komercialne zemlje, namenjene spodbujanju rasti rastlin in cvetja. Sestavljen je iz šote, ki načeloma velja za dobre izboljševalce zemlje. Za boljšo rast so dodana organska gnojila.



Slika 8: Barvna lestvica za določanje koncentracije nitrata, proizvajalca EcoLabBox (foto: M. Globačnik, 2018)

4.2 Optimizacija in nadgradnja EcoLabBox metod

4.2.1 Optimizacija EcoLabBox metode z uporabo filtracije

Po navodilih EcoLabBox moramo po pripravi ekstrakta za pH analizo počakati, da se delci posedejo na dno. Nato lahko tekočino prelijemo v testno stekleničko do oznake. Pri izvajanju poizkusa pri vzorcu T1 se trdi delci sploh niso v celoti posedli, ampak je del plaval na površju, del se je posedel, tekočina med obema fazama je bila zelo motna. Zaradi tega smo morali pri vzorcu T1 uporabljati filtracijo, sicer meritve nismo mogli natančno izvesti.

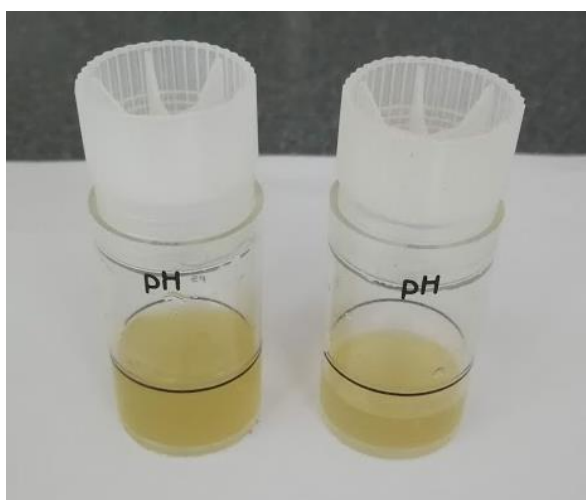
Tudi na začetku testiranja vzorca T2 smo poskusili narediti po navodilih - brez filtriranja. Uporabili smo metodo s prelivanjem. Zmes je bila motna, kot lahko vidimo na Sliki 9. Zaradi tega je bilo rezultat skoraj nemogoče razbrati. Vidni so tudi delčki zemlje zgoraj, spodaj je manjša usedlina. Kljub temu, da smo bili pri prelivanju res pozorni, se ob dvigu čaše in prelitju usedlina nekoliko pomeša z bistrim vzorcem. Tako imamo pri pH 6-7, kjer je 6 barva rumena in 7 zelena zelo nejasen rezultat. Zaradi nejasnega rezultata in težav pri izvedbi meritve, smo se pri vseh nadaljnjih meritvah odločili za uporabo filtracije. Rezultat v filtriranem ekstraktu je bil bolj jaseen in brez flokul, ki bi omejevale berljivost rezultata.



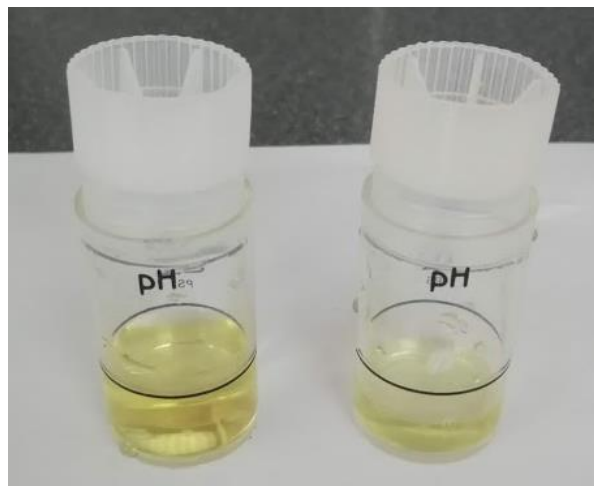
Slika 9: Rezultat meritve pH vzorca T2 s celotnimi in polovičnimi vrednostmi BREZ filtracije (foto: M. Globačnik, 2018)

Pri izvajanju poizkusov smo imeli največ težav z vzorcem T1. Vzorec T1 se namreč razlikuje po sestavi od vzorcev T2 in T3. Zaradi obogatenosti s šoto in humusom se delci niso raztopili, niti ne posedli, ampak so plavalii v tekočini. Zaradi večjih netopnih delcev se je papir za filtracijo zamašil.

Prefiltrirani ekstrakt se je ločil med vzorci po barvi, saj smo dobili pri vzorcu T1 kalno mešanico (Slika 10), medtem ko je bila pri T2 in T3 vzorcu mešanica bistra (Slika 11). Tako je prišlo pri vzorcu T1 zaradi kalnosti ekstrakta tudi do težje določitve barve pri kolorimetriji. Na Sliki 10 je predstavljen ekstrakt za merjenje pH vzorca T1, na Sliki 11 pa ekstrakt za merjenje pH vzorca T2. Opazimo lahko, da je pri vzorcu T1 ekstrakt motnejši.



Slika 10: Rezultat meritve pH vzorca T1 po navodilih EcoLabBox in polovičnimi vrednostmi S filtracijo (foto: M. Globačnik, 2018)



Slika 11: Rezultat meritve pH vzorca T2 po navodilih EcoLabBox in polovičnimi vrednostmi S filtracijo (foto: M. Globačnik, 2018)

Iz teh meritev smo ugotovili, da je izvajanje meritev za pH komercialne zemlje po metodi EcoLabBox zahtevnejše, rezultati pa niso tako zanesljivi. Ob nejasnih rezultatih, ki smo jih dobili, bi predlagali tudi souporabo natančnejših metod, npr. uporabo Vernierjevega vmesnika z ustreznim senzorjem, kar smo v nadaljevanju tudi izvedli (poglavje 4.2.3.)

4.2.2 Optimizacija EcoLabBox metode z uporabo magnetnega mešala

V navodilih za izvajanje meritev po EcoLabBox metodi so zapisani časovni okvirji za stresanje stekleničke z ekstraktom. Stresanje je ključno pri pripravi ekstrakta, saj se ob tem razgradijo trdni topni delci in se zmes ustrezno premeša. Za enakomerno in optimalno mešanje smo zato uporabili magnetno mešalo. Uporaba magnetnega mešala pri uporabi kovčka EcoLabBox na terenu je nemogoča, saj magnetno mešalo ni del prenosljive laboratorijske opreme. Morda bi lahko opremo nadgradili tako, da bi kupili baterijsko magnetno mešalo, ki bi ga lahko odnesli na teren.

4.2.3 Optimizacija EcoLabBox metode z uporabo digitalnih meritev

V navodilih EcoLabBox piše, da pri meritvah uporabljamo vzorce, ki jih pred testiranjem sušimo na zraku. Zanimalo nas je, ali je sušenje potrebno, ali se lahko opravljajo meritve na svežem vzorcu. Z vmesnikom Vernier smo spremljali vlago in temperaturo za vzorca T2 in T3 pri svežem vzorcu in po 24 urnem sušenju vzorcev.

4.2.3.1 Digitalne meritve vlage

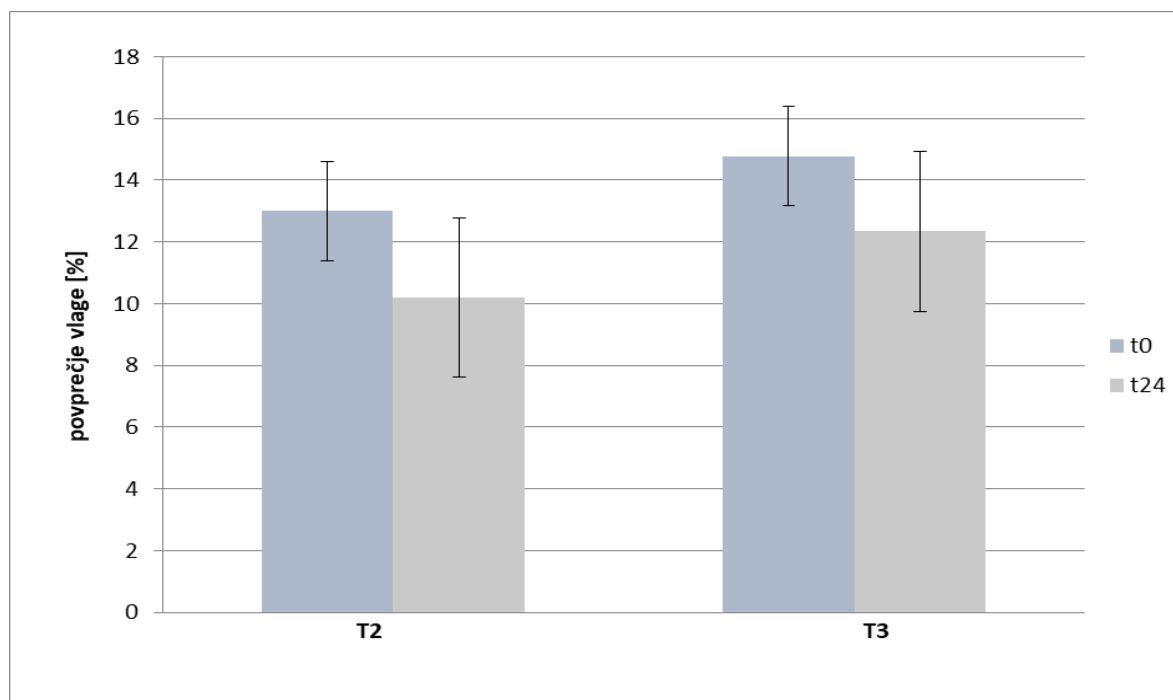
Pri testiranju smo imeli vremenske pogoje vlažne, zato je bila začetna vlaga vzorcev T2 in T3 med 11,7% in 15,3 %. Zaradi visokega odstotka vlage bi pomenilo, da bi morali vsak vzorec pred analizo sušiti. Zato smo v časovnem obdobju 24 ur spremljali, kako se spremeni vlaga ter nato s ponovitvijo metod EcoLabBox ugotavljali, ali sprememba vlage na rezultate hitrih testov dejansko vpliva. Glede izvajanja hitrih testov to pomeni daljše časovno obdobje za testiranje. V primeru, da bi se testiranje izvajalo v sklopu šolskih ur ali na terenskem ogledu, kjer je potrebno stanje določiti takoj, bi pomenilo, da bi sama priprava zemlje in vzorčenje pred analizo potekalo najmanj 2 dneva, kar je časovno neekonomično. V Preglednici 5 smo podali rezultate merjenja vlage za svežo vzorčena tla in tla, sušena 24 ur na zraku. Eksperiment smo izvedli za vzorca T2 in T3. Vzorec T1 je že bil suh, tako da takrat meritve vlage nismo izvajali. Odstotek vlage se je v 24 urah v povprečju zmanjšal pri vzorcu T2 za

22,3 % s standardnim odklonom 10,2 % in pa vzorcu T3 za 16,5 % s standardnim odklonom 2,7 % (Preglednica 5).

Preglednica 5: Vlaga vzorca T2 in T3 ob odvzemu in po 24 urah s standardnim odklonom

		ob odvzemu [% vlage]	po 24h [% vlage]	sprememba vlage v %
T2	1.	12,5	9,7	22,4%
	2.	14,8	13	12,2%
	3.	11,7	7,9	32,5%
	povprečje	13	10,2	22,3%
	stand. odklon	1,61	2,59	10,2%
T3	1.	15,3	13,2	13,7%
	2.	14,6	11,8	19,2%
	3.	14,4	12	16,7%
	povprečje	14,8	12,3	16,5%
	stand. odklon	0,5	0,8	2,7%

Graf 1: Rezultati merjenja vlage za sveže vzorčeno zemljo in zemljo sušeno 24 ur



Graf 1 prikazuje povprečno spremembo vlage v 24 urah za vzorca T2 in T3. Modra stolpca prikazujeta povprečje vlage na začetku izvajanja meritev (t0), siva stolpca pa prikazujeta povprečje vlage po 24 urah (t24). Po 24 urah je standardni odklon precej večji kot v času t0.

Po 24 urah je bila zemlja še vedno vlažna, tako da po tem času ne moremo z gotovostjo trditi, da je zemlja bolj ustrezna za izvajanje meritev po navodilih EcoLabBox, za katerega je

predvidena »suha« zemlja. Daljše sušenje zemlje ne bi bilo dobro, saj vzorec ne bi bil več svež in ne bi omogočal določitve dejanskega stanja kemijskih parametrov na terenu.

Nato smo za vse parametre izvajali analize takoj po vzorčenju tal in po 24 urah. Rezultati niso pokazali nikakršnih odstopanj (Preglednica 6). V vseh primerih so se rezultati ujemali. Na podlagi tega lahko sklepamo, da za izvajanje analiz po EcoLabBox metodi ni potrebno predhodno sušenje vzorcev tal.

Preglednica 6: Primerjava vrednosti izmerjenih parametrov takoj in po 24 urah z uporabo EcoLabBox metod

	pH		Nitrati (mg/L)		Nitriti (mg/L)		Amonij (mg/L)		Fosfati (mg/L)	
	t0	t24	t0	t24	t0	t24	t0	t24	t0	t24
T1	6	6	50	50	≥0,2	≥0,2	3	3	0,5	0,5
T2	6,5	6,5	1	1	≥0,2	≥0,2	3	3	1,5	1,5
T3	6,3	6,3	1	1	≥0,2	≥0,2	3	3	1,5	1,5

4.2.3.2 Digitalne meritve temperature

V Preglednici 7 smo podali rezultate merjenja temperature za svežo vzorčena tla in tla, sušena 24 ur na zraku. Eksperiment smo izvedli za vzorca T2 in T3. Za vzorec T1, tako kot pri meritvah vlage, meritve nismo izvajali. Temperatura se je v 24 urah v povprečju povečala pri vzorcu T2 za 4,2 °C, pri vzorcu T3 pa za 4,7 °C (Preglednica 7). Najnižja temperatura za sveže vzorčena tla je bila izmerjena pri vzorcu T2 in sicer 11,3 °C, medtem ko je bila najvišja 19,6 pri vzorcu T2. Takšne temperaturne razlike med vzorci so pogojene z temperaturami ozračja na dan vzorčenja. Po 24 urah sušenja so razlike temperature med vzorci bolj izenačene kot pri T0 in se gibljejo med 19,1 in 21,8 °C. Takšno nizko odstopanje je zopet posledica temperature okolja, glede na to, da smo vzorce sušili v zaprtem prostoru v laboratoriju. Ker se rezultati vzorcev merjenih parametrov (pH, nitratov, nitritov, amonija in fosfatov) ne razlikujejo ob T0 in T24 lahko sklepamo, da temperaturna razlika med 11,3 °C in 21,8 °C ne vpliva na rezultate analiz.

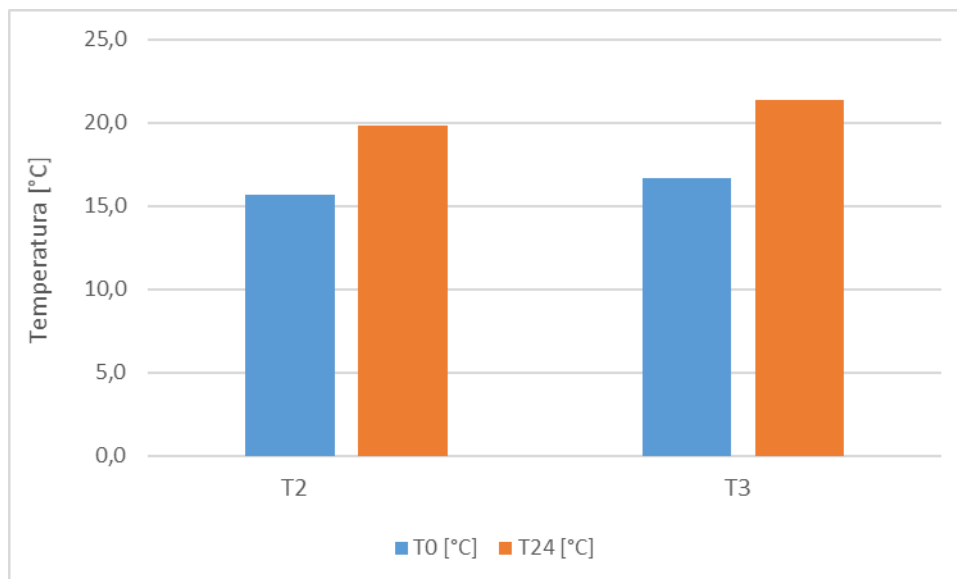
Preglednica 7: Temperatura vzorca T2 in T3 ob odvzemu in po 24 urah s standardnim odklonom

		T0 [°C]	T24 [°C]	razlika [°C]
T2	1.	19,6	20,1	0,5
	2.	16,1	20,3	4,2
	3.	11,3	19,1	7,8
	povprečje	15,7	19,8	4,2
	stand. odklon	4,2	0,6	
T3	1.	17,3	21,8	4,5
	2.	16,6	21,3	4,7
	3.	16,2	21	4,8
	povprečje	16,7	21,4	4,7
	stand. odklon	0,6	0,4	

Graf 2 prikazuje povprečno spremembo temperature v 24 urah za vzorca T2 in T3. Modra stolpca prikazujeta povprečje temperature na začetku izvajanja meritev (T0), oranžna stolpca

pa prikazujeta povprečje temperature po 24 urah (T24). Na začetku izvajanja meritev (T0) se standardna odklona precej razlikujeta med vzorcema. Temperatura se je pri vzorcu T1 v povprečju znižala za 4,2 %, temperatura vzorca T2 pa za 4,7%. Standardni odklon pri vzorcu T2 je 4,2, medtem ko je pri T3 standardni odklon 0,6. Po 24 urah sta razliki v standardnem odklonu podobni, pri T2 je standardni odklon 0,6, medtem ko je pri T3 standardni odklon 0,4.

Graf 2: Rezultati merjenja temperature za sveže vzorčeno zemljo in zemljo, sušeno 24 ur



4.2.4 Natančnost meritev in primerjava z digitalnimi meritvami

Zaradi praktičnih težav z usedljivostjo delcev in posledično dodatkom postopka filtracije ter zaradi možnosti sušenja vzorcev, smo ustreznost merjenja pH vrednosti z EcoLabBox metodo preveriti še z digitalno, bolj natančno metodo (vmesnik Vernier). Preglednica 8 prikazuje rezultate meritev vrednosti pH po metodi EcoLabBox in digitalnim vmesnikom Vernier, meritve pa smo izvedli takoj ob vzorčenju (t0) in po 24h (t24) sušenja na zraku. Vse meritve po EcoLabBox metodi so enake, torej med 6-7. Izjema je 3. poizkus vzorca T3, pri katerem smo namerili pH 6. Razlike smo opazili pri dveh meritvah od šestih. Rezultat EcoLabBox metode je pri zemlji T2 pri drugem poizkusu pokazal vrednost pH med 6 in 7, medtem ko smo z električnim vmesnikom izmerili pri takojšnjemu odvzemu pH 5,62 in po 24 urah 5,71. Prav tako je test EcoLabBox metode pokazal napako pri zemljini T3, saj je po tretjem poskusu bil rezultat 6, z elektronskim vmesnikom pa smo namerili vrednost višjo kot 7.

Preglednica 8: Rezultati merjenja pH po EcoLabBox metodi in elektronskim vmesnikom

		pH			
		EcoLabBox metoda		elektronsko	
		takoj (t0)	po 24h (t24)	takoj (t0)	po 24h (t24)
T2	1.	6-7	6-7	6,12	6,17
	2.	6-7	6-7	5,62	5,71
	3.	6-7	6-7	6,71	6,72
T3	1.	6-7	6-7	6,23	6,30
	2.	6-7	6-7	6,58	6,63
	3.	6	6	7,08	7,17

Rezultati so pokazali, da merjenje parametra pH po EcoLabBox metodi ni povsem zanesljivo, saj nam meritve ne dajo natančnih rezultatov. Z metodo EcoLabBox lahko dobimo le približen vpogled v stanje tal, za natančnejše rezultate pa predlagamo meritve z digitalnim vmesnikom, kot je npr. Vernier LabQuest 2.

V teoretičnem delu smo pisali o tem, da na vrednost pH vpliva temperatura (poglavje 2.5.1). Nihanja v vrednosti pH so torej lahko posledica temperaturnih razlik. Pri izvajanju meritev je prišlo med posameznimi meritvami do odstopanj v temperaturi. V Preglednici 9 so povzeti rezultati, kako so se vrednosti pH in temperatura spreminjali po 24-urnem sušenju na zraku. Vidimo lahko, da temperaturne razlike (razlika med T0 in T24 – poglavje 6.2.3.2.) bolj nihajo pri vzorcu T2, kjer minimalno razliko prikazuje meritev 1 in sicer 0,5 °C, maksimalno razliko v temperaturi pa meritev 3, ki pa znaša 7,8 °C. Pri vzorcu T3 so bile spremembe v temperaturi med ponovitvami zelo konstantne. Kljub razlikah v temperaturi nismo pri nobenem vzorcu opazili večjih razlik med vzorci za parameter pH. Na podlagi rezultatov lahko sklepamo, da manjša temperaturna razlika ne vpliva bistveno na vrednost pH, merjenega z elektronskim vmesnikom.

Preglednica 9: Primerjava nihanja med pH merjene z elektronskim vmesnikom in temperature

		pH0	pH24	temperaturna razlika [°C]
T2	1.	6,12	6,17	0,5
	2.	5,62	5,71	4,2
	3.	6,71	6,72	7,8
T3	1.	6,23	6,3	4,5
	2.	6,58	6,63	4,7
	3.	7,08	7,17	4,8

4.2.5 Optimizacija EcoLabBox metod s polovičnimi vrednostmi

Vzporedno z vsako meritvijo po navodilih EcoLabBox priročnika smo opravili tudi testiranje vseh parametrov z polovičnimi vrednostmi. Rezultati testiranja so predstavljeni v Preglednici 10. Rezultati so pokazali, da dajejo meritve z uporabo predpisanih in polovičnih vrednosti enake rezultate za vsak vzorec pri vseh ponovitvah. Tudi pri polovičnih vrednostih smo

zaznali odsopanja med ponovitvami le pri vzorcu T3 in merjenju pH vrednosti, kar je skladno z meritvami s priporočenimi količinami reagenta.

Preglednica 10: Polovične vrednosti izmerjenih parametrov z uporabo EcoLabBox metod

		pH	Nitrati (mg/L)	Nitriti (mg/L)	Amonij (mg/L)	Fosfati (mg/L)
		1/2	1/2	1/2	1/2	1/2
T1	1.	6	50	≥0,2	3	0,5
	2.	6	50	≥0,2	3	0,5
	3.	6	50	≥0,2	3	0,5
T2	1.	6-7	1	≥0,2	3	1,5
	2.	6-7	1	≥0,2	3	1,5
	3.	6-7	1	≥0,2	3	1,5
T3	1.	6-7	1	≥0,2	3	1,5
	2.	6-7	1	≥0,2	3	1,5
	3.	6	1	≥0,2	3	1,5

Pri testiranju hitrih testov z uporabo polovičnih vrednosti pri nobeni analizi ni prišlo do odstopanj rezultatov. Vrednosti povprečnih meritev so prikazane v Preglednici 11, razvoj intenzitete barv po končanih preizkusih pa na Sliki 12.

Preglednica 11: Povprečje polovičnih vrednosti izmerjenih parametrov z uporabo EcoLabBox metod

	pH	Nitrati (mg/L)	Nitriti (mg/L)	Amonij (mg/L)	Fosfati (mg/L)
T1	6	50	≥0,2	3	0,5
T2	6,5	1	≥0,2	3	1,5
T3	6,3	1	≥0,2	3	1,5

Skupaj je bilo opravljenih 75 analiz celotnih in polovičnih vrednosti. Vse analize so imele pri celotni in polovični vrednosti enak rezultat. Polemiko o natančnosti dodajanja z žličko lahko označimo kot neupravičeno. Iz rezultatov lahko sklepamo, da so polovične vrednosti kompatibilne s celotnimi, zato se lahko v nadaljevanju pri analizah z EcoLabBox kovčkom poslužujemo polovičnih vrednosti. Ta ugotovitev je predvsem s strani ekonomskega vidika dobra, saj se s tem prihrani polovico manj reagentov. Za celotna testiranja, ki so vključevala skupno 150 analiz, smo porabili reagente in ekstrakcijske pufre skoraj za vsebino enega kovčka (kakšnega reagenta je še nekaj ostalo), kar pomeni, da se za polovične vrednosti lahko naredi cca 300 analiz.



Slika 12: Rezultati meritve celih in polovičnih vrednosti vseh parametrov pri vzorcu T2 (foto: M. Globacnik, 2018)

4.3 Primerjava kovčka EcoLabBox z ostalimi kovčki na trgu

V zadnjem delu diplomske naloge smo EcoLabBox set primerjali z nekaj drugimi, ki so dostopni na tržišču. V Preglednici 12 lahko vidimo, kakšni so razponi in mejne vrednosti parametrov, ki smo jih analizirali tudi mi.

Preglednica 12: Preglednica hitrih testov in lastnosti

LASTNOSTI	TESTI			
	EcoLabBox	JBL Combiset	VISOCOLOR®	SKW500 CSK
ime	tla in vodo	vodo	tla	tla
tip	do 9	3-10	2-9	0-14
pH	Ni podatka	da	1-80	ne
nitrit (NO ₂) mg/L	do 80	da	4-60	do 25
nitrat (NO ₃ ⁻) mg/L	do 10	da	0,1-2,5	75
NH ₃ /NH ₄ mg/L	do 6	ne	0,6-15	150
fosfati mg/L				

Že v splošnem opisu kovčkov lahko vidimo, da je izmed predstavljenih le EcoLabBox primeren za tla in vodo, medtem ko je JBL samo za vodo (medmrežje 7) in ostala dva le za tla. Za našo raziskavo bi bili torej vsi kovčki, razen JBL, primerni. Če pa posplošimo, je EcoLabBox zaradi možnosti analiz v vodi in v tleh najbolj primeren. Največji razpon parametrov je pri kovčku SKW500 CSK (Medmrežje 8), s tem, da nima možnost merjenja nitritov v zemlji. EcoLabBox (Slika 13) in VISOCOLOR (Slika 14) sta si med seboj dokaj podobna. Oba imata možnost merjenja pH do 9. Pri nitratih ima višjo zgornjo vrednost EcoLabBox, do 80 mg/L, medtem ko ima VISOCOLOR do 60 mg/L. Za amonij ima EcoLabBox bistveno višjo zgornjo mejo, do 10 mg/L, ima pa pri fosfatih nižjo, do 6 mg/L.

Cena kovčka EcoLabBox znaša 104,5 €, JBL 41,50 €, za ostala dva pa cena ni dostopna. Pri VISOCOLOR smo lahko izračunali ceno posameznih reagentov: pH set stane 40,13€, prav toliko stane tudi test za nitrite, za nitrate in fosfate 39,36€ ter za amonij 46,66€ (Medmrežje 9). Skupaj bi za reagente odšteli 224,46€, kar je v primerjavi z EcoLabBox kar znatno dražje.



Slika 13: Barvna lestvica za določanje koncentracije proizvajalca EcoLabBox (foto: M. Globačnik, 2018)



Slika 14: Barvna lestvica za določanje koncentracije proizvajalca Visocolor (foto: J. Krautberger, Medpodjetniški izobraževalni center Velenje, 2019)

Če primerjamo med seboj barvni lestvici za pH in P proizvajalca VISOCOLOR (slika 14) in barvno lestvico EcoLabBox (slika 13), lahko ugotovimo, da lahko razberemo pri obeh podrobnejši rezultat pri barvni lestvici proizvajalca VISOCOLOR. Za pH ima slednjo razpona med vsaki naslednji stopnji 0,5, medtem ko ima EcoLabBox razpon za 1. Pri P ima VISOCOLOR 10 mejnih vrednosti, medtem ko ima EcoLabBox 6, kar pomeni da je zopet

natančnejši VISOCOLOR. Vprašanje je, koliko je dejansko možnost za napačno razbran rezultat pri VISOCOLOR, saj so si od ene do druge meje barve zelo podobne. Če pogledamo, je med 0-1, 1-2 in tako dalje barva zelo podobna. Med izvajanjem testiranja smo lahko ugotovili, kako hitro bi lahko prišlo do napačne določitve, če bi si bile barve bolj podobne, kot so si sicer pri lestvici EcoLabBox. Ravno nasprotno pa smo imeli težave pri določitvi rezultatov za pH, saj je bila barva za določanje pogosto med 6 in 7 po EcoLabBox lestvici, kar bi nam lahko v primeru VISOCOLOR-ja dalo natančnejši rezultat, saj je med 6 in 7 še vmesna stopnja 6,5.

5 SKLEPI

EcoLabBox terenski kovček je enostaven prenosni kovček, ki se uporablja za terensko analizo kemijskega stanja voda in tal. Vsebuje več hitrih testov, ki temeljijo na principu kolorimetrije in so enostavni za uporabo, njihova izvedba je hitra ter omogočajo pridobitev prvih »real-time« podatkov na mestu testiranja. V diplomski nalogi smo želeli terenski kovček EcoLabBox testirati na različnih vzorcih tal in optimizirati posamezne postopke iz vidika hitrejše, natančnejše in bolj ekonomične analize. Merili smo naslednje parametre: pH, nitrate, nitrite, amonij in fosfate. Najprej smo opravili analize hitrih testov po priporočilih proizvajalca. Za vsak vzorec tal smo izvedli več ponovitev, da smo lahko potrdili ponovljivost rezultatov. Rezultati so bili ponovljivi, metode polovičnih vrednosti so se zaradi ponovljivosti izkazale kot zanesljive z uporabo naših vzorcev.

V času analiz smo uvedli izboljšave v smislu optimizacije celotne uporabe terenskega kovčka EcoLabBox. To so dodatni postopki ekstrakcije vzorcev, uporaba magnetnega mešala, sočasno merjenje izbranih parametrov z digitalnim vmesnikom ter izvedba metod z manjšo porabo reagentov.

Najprej smo v začetno fazo - pripravo ekstrakta za določitev vrednosti pH dodali postopek filtracije. Rezultati v filtriranem ekstraktu so bili namreč bolj jasni, flokul, ki bi omejevale berljivost rezultata in so bile prisotne pri postopku brez filtracije, nismo več zaznali. Pri vzorcu komercialne zemlje (T1) smo dobili motnejši ekstrakt kot pri ostalih dveh vzorcih, zato lahko trdimo, da je izvajanje meritev za pH komercialne zemlje po metodi EcoLabBox zahtevnejše, rezultati pa niso tako zanesljivi. Da bi lahko to ugotovitev trdili z večjo zanesljivostjo, bi bilo potrebno analizirati še več komercialnih vzorcev in jih primerjati z realnimi vzorci iz okolja. Ob nejasnih rezultatih, ki smo jih dobili, bi predlagali uporabo natančnejših metod, kot je npr. uporaba Vernierjevega vmesnika z ustreznim senzorjem. Tudi mi smo sočasno izvedli meritve z vmesnikom Vernier, ki so pokazale vrednosti pH v enakem območju kot EcoLabBox metoda, vendar je bila določitev hitrejša in bolj natančna. Razlike smo opazili pri dveh meritvah od šestih za parameter pH. Lahko zaključimo, da merjenje parametra pH po EcoLabBox metodi ni povsem zanesljivo, saj nam meritve ne pokažejo natančnih rezultatov. Z metodo EcoLabBox dobimo le približen vpogled v stanje kislosti oziroma bazičnosti tal.

Z vidika učinkovitejše in hitrejše izvedbe meritev, smo optimizirali tudi postopek ekstrakcije. Stresanje je ključno pri pripravi ekstrakta, a mora biti izvedeno v predpisanem časovnem okvirju. Za enakomerno in optimalno mešanje smo uporabili magnetno mešalo. Ta metoda je primernejša za izvajanje meritev v laboratoriju.

Spremljali smo tudi spremembo vlage vzorcev T2 in T3 v časovnem obdobju 24 ur, saj naj bi po navodilih proizvajalca za EcoLabBox kolorimetrične metode uporabljali na zraku sušeno zemljo. Po 24 urah je bila zemlja še vedno vlažna, zato ne moremo trditi, da je bila ustrezna (dovolj suha) za izvajanje meritev po navodilih EcoLabBox. Vseeno smo parametre izmerili takoj po vzorčenju tal in po 24 urah sušenja na zraku v laboratoriju in primerjali dobljene rezultate. Rezultati niso pokazali nobenih odstopanj, zato lahko sklepamo, da za izvajanje analiz po EcoLabBox metodah ni potrebno predhodno sušenje vzorcev tal.

Optimizacija s polovičnimi vrednostmi velja za najpomembnejšo optimizacijo, saj smo s tem dokazali, da za točnost, natančnost in ponovljivost rezultatov ne potrebujemo takšnih količin reagentov, kot so zapisane v navodilih EcoLabBox. Skupaj je bilo opravljenih 75 analiz celotnih in polovičnih vrednosti. Vse analize so imele pri celotni in polovični vrednosti enak rezultat. Ta ugotovitev je predvsem s strani ekonomičnega vidika dobra, saj se s tem prihranijo reagenti in lahko izvedemo 2-krat več analiz.

Na koncu smo primerjali kovček EcoLabBox še z nekaj drugimi, ki so dostopni na tržišču. Podrobnejšo primerjavo smo naredili med terenskim kovčkom EcoLabBox in VISOCOLOR.

Po primerjavi razponov merjenih parametrov smo ugotovili, da je VISOCOLOR primernejši. Izpostavili pa smo vprašanje, kakšna je dejansko možnost za napačno razbran rezultat pri VISOCOLOR, saj so si od ene do druge meje barve na barvni lestvici zelo podobne. Ravno nasprotno smo imeli težave pri EcoLabBox metodi ob določitvi rezultatov za pH, saj je bila barva za določanje pogosto med 6 in 7 po EcoLabBox lestvici, kar bi nam lahko v primeru VISOCOLOR-ja dalo natančnejši rezultat, saj je med 6 in 7 še vmesna stopnja 6,5.

V sklepu lahko na podlagi vseh ugotovitev potrdimo obe na začetku postavljeni hipotezi.

Prva hipoteza: Optimizirana metoda merjenja kemijskih parametrov z EcoLabBox terenskim kovčkom je primerna za izvajanje analiz tal na terenu, saj se rezultati le-te od originalne EcoLabBox metode ne razlikujejo.

Raziskava je pokazala, da je optimizacija s polovičnimi vrednostmi povsem primerna. Rezultati, ki smo jih dobili z uporabo polovičnih in celih količin reagentov, se popolnoma ujemajo. Niti pri enem poskusu od najmanj 75 izvedenih nismo zaznali odstopanj rezultatov.

Druga hipoteza: Testi po metodi EcoLabBox so v primerjavi z drugimi hitrimi testi tehnično najmanj zapleteni ter časovno in ekonomsko upravičeni.

EcoLabBox je med izbranimi terenskimi kovčki ekonomsko res najbolj upravičen, tehnično tudi manj zahteven. Časovna komponenta je lahko spremenjena ob dodatku različnih optimizacijskih korakov, ki vplivajo na kvaliteto rezultatov. A še vedno je izvedljivost vseh meritev enostavna in hitra, zato je terenski kovček po naših izkušnjah uporaben za hitro kemijsko analizo tal. To je pomembno tudi pri izvajanju pedagoških poskusov, saj študenti princip meritev razumejo, izvedejo ga hitro in enostavno, rezultati so jasni.

Ob koncu testiranja EcoLabBox metod je potrebno poudariti, da je terenski kovček uporaben za hitro, preliminarno analizo kemijskega stanja tal. Za pridobitev bolj natančnih vrednosti posameznih parametrov bi morali analize nadgraditi z uporabo natančnejših metod, tudi spektroskopskih. Za bolj natančne in zanesljive metode se uporabljajo spektrofotometri, ki omogočajo določitev natančne koncentracije posameznega iona v tleh v zelo majhnih količinah, tudi do 4 decimalke natančno.

6 POVZETEK

Hitri testi so največkrat namenjeni hitrim, preliminarnim analizam, namenjenim začetni oceni in pregledu kemijskega stanja nekega medija. Diplomaska naloga je razdeljena na dva dela.

V prvem, teoretičnem delu smo raziskali in pisali o zakonski podlagi, definirali smo metode v analizi kemiji, pri čemer smo se osredotočili na kolorimetrijo- metodo, na kateri temeljijo naše meritve, ter opisali terenski kovček EcoLabBox. V poglavju kolorimetrična določitev parametrov v tleh smo opisali potek in značilnosti metode kolorimetrije za vse parametre, ki smo jih merili v času analiz (pH, nitrate, nitrite, amonij in fosfate).

V drugem delu diplomske naloge smo testirali in optimizirali laboratorijski kovček za izvajanje okoljskih poskusov na terenu – EcoLabBox. Meritve smo izvajali na treh različnih vzorcih, testirali smo parametre: pH, nitrate, nitrite, amonij in fosfate. Vpeljali smo izboljšave v smislu optimizacije terenskega kovčka EcoLabBox, kot so: vpeljava dodatnih postopkov filtracije in uporabo magnetnega mešala, ovrgli potrebo po predhodnem sušenju tal in optimizirali metodo izvajanja meritev s polovičnimi vrednostmi reagentov. Vzporedno z meritvami po navodilih EcoLabBox smo izvajali meritve z elektronskim vmesnikom Vernier LabQuest 2.

Z izvajanjem analiz in optimizacijskih procesov smo prišli do določenih zaključkov.

Pri pripravi ekstrakta za določitev vrednosti pH je potrebno ekstrakt filtrirati, saj je na ta način lažja berljivost rezultata pri določevanju vrednosti. Pri tem bi poudarili, da so rezultati z okoljskim vzorcem jasnejši in lažje določljivi, pri vzorcu komercialne zemlje smo rezultat težje razbrali zaradi motnejšega ekstrakta.

S primerjavo rezultatov pH dobljenih z analizami po navodilih EcoLabBox metode in metode merjenja z vmesnikom Vernier smo preverili natančnost metode EcoLabBox. Meritve so pokazale vrednosti pH v enakem območju kot EcoLabBox metoda v večini primerov, zato ni povsem zanesljiva, saj nam meritve ne pokažejo natančnih rezultatov. Z metodo EcoLabBox dobimo le približen vpogled v stanje kislosti oziroma bazičnosti tal.

Za natančnejšo pripravo ekstrakta smo predlagali uporabo magnetnega mešala, ki pa je primerna za delo v laboratoriju.

Dokazali smo, da za izvajanje analiz po EcoLabBox metodah ni potrebno predhodno sušenje vzorcev tal smo dokazali z izvajanjem takojšnjih meritev in meritev po predhodnem sušenju 24 ur vlage in temperature. Odstopanja med rezultati takoj in po 24 urah ni bilo, zato lahko sklepamo, da vlaga nima vpliva na rezultate. Prav tako smo pokazali, da temperaturna razlika zemlje med 11,3 °C in 21,8 °C, ki nastane ob sušenju, ne vpliva na rezultate analiz.

Z meritvami predpisanih in polovičnih vrednosti reagentov smo ugotovili, da do razlik v rezultatih merjenih parametrov ni prišlo. S tem smo dokazali, da je raba polovičnih vrednosti reagentov mogoča, kar je dobro tudi za nadaljnje analize s kovčkom EcoLabBox v smislu zmanjšanja porabe reagentov.

Na podlagi izvedenih analiz in optimizacij metod EcoLabBox terenskega kovčka lahko zaključimo, da je le-ta uporaben za terensko delo v okviru pedagoškega dela. Omogoča tudi pridobitev rezultatov v realnem času na terenu, ki so lahko podlaga za bolj natančne raziskave, ter nam podaja le grobo oceno kemijskega stanja tal.

7 SUMMARY

Rapid tests are usually used for quick, preliminary analyses for primary assessment purposes and to obtain an overview of a medium's chemical state. This diploma thesis comprises two parts.

The first, theoretical part researches and describes the subject's legal basis, defines methods in analytical chemistry, focusing on colorimetry – the method that our measurements are based on, and describes the mobile kit EcoLabBox. The chapter dedicated to defining colorimetric parameters in the soil describes the process and characteristics of the colorimetric method with regard to all the parameters that were measured during the analyses (pH, nitrates, ammonium, phosphates).

The second part of the thesis focuses on testing and optimizing the lab kit for carrying out environmental field testing – EcoLabBox. The measurements were carried out on three different samples with the following parameters: pH, nitrates, ammonium, and phosphates. We also introduced some improvements to optimize the mobile kit EcoLabBox: implementing additional filtration processes and using a magnetic stirrer, discarding the need for preliminary soil drying and optimizing the method of carrying out measurements with reagents at half-values. Parallel to carrying out measurements according to the EcoLabBox instructions, we also carried out measurements with the electronic interface Vernier LabQuest 2.

Carrying out analyses and optimization processes helped us develop certain conclusions: the extract needs to be filtered when it is being prepared for pH value determination since this allows better readability of results when determining the value. With regard to this, it should be emphasized that the results of the environmental pattern were clearer and easier to identify as the results of the sample with commercial soil because the extract was noticeably more opaque.

In the next phase, we compared the pH results obtained during the analysis performed according to the instructions of the EcoLabBox method and the results of the measurement method carried out with the Vernier interface to verify the accuracy of the EcoLabBox method. In most cases, the measurements' pH values were in the same range as those obtained with the EcoLabBox method, which demonstrates that this method is not very reliable since the measurements do not produce accurate results. The EcoLabBox method thus provides an approximate insight into the state of acidity and alkalinity of the soil.

For more precise extract preparation we suggested using a magnetic stirrer but this method is only suitable for laboratory work.

By performing moisture and temperature measurements at the very beginning and after a 24-hour drying period, we concluded that there is no need to perform preliminary drying of soil samples in order to carry out analyses using the EcoLabBox method. There was no discrepancy between the results of immediate measurements and those performed after a 24-hour delay, so we can conclude that moisture does not have a direct impact on the results. We also showed that the difference between soil temperature, which rises during the drying process from 11.3 °C to 21.8 °C, does not impact the results of analyses either.

Furthermore, measuring reagents at prescribed and half-values also helped us conclude that there are no differences in the results of measured parameters. This proves that the use of reagents at half-values is not only possible but also favorable for further analyses with the EcoLabBox kit because it enables reduced reagent consumption.

On the basis of implemented method analyses and optimization strategies of the EcoLabBox mobile kit we can conclude that it is useful for fieldwork in terms of pedagogical work. It also enables the acquisition of preliminary results in real time and on site, serving as the basis for more accurate research and providing a rough assessment of the soil's chemical state.

8 VIRI IN LITERATURA

Agencija Republike Slovenije za okolje (ARSO). Tla. Vir: <https://www.arso.gov.si/varstvo%20okolja/tla/> (5.9.2018).

Alloway, B. J., (1990). Heavy Metals in Soils. New York, *Blackie, John Wiley & Sons*, 339 str.

Brodnjak Vončina, D., (2006). Analizna kemija II. *Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo*, str. 2–3.

Carter, M. R., Gregorich, E. G., (2007). Soil Sampling and Methods of Analysis. *Canadian Society of Soil Science*, str. 7.

Coale, J. F. Soil Sample Collection, Handling, Preparation, and Storage. V: Kovar J. L., Pierzynski G. M., (2009). Methods of Phosphorus Analysis for Soils, Sediments, Residuals, and Waters Second Edition. *Southern Cooperative Series Bulletin* No. 408, str. 6–8.

Dvoršek, J., Polajnar, T. Določanje fosfatov v zemlji. Vir: http://www.kii3.ntf.uni-lj.si/analchem_voc2/file.php/1/HTML/slo/SPEKTRA/okoljske1.htm (7.9.2018).

Faber, B. A., Downer, J., Holstege, D., Mochizuki, M. J. (2018). Accuracy Varies for Commercially Available Soil Test Kits Analyzing Nitrate–Nitrogen, Phosphorus, Potassium, and pH. *American Society for Horticultural Science* 17 (3), str. 358–362.

Grčman, H., Zupan, M., (2010). Praktična pedologija. *Center za pedologijo in varstvo okolja*. 25–43 str. Vir: <https://www.scribd.com/document/328375616/Prakti%C4%8Dna-pedologija>.

Hiskey, C. F., (1949). Principles of Precision Colorimetry. Brooklyn, *Polytechnic Institute of Brooklyn*, str. 1440.

Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije. Vzorčenje tal za osnovno analizo. Medmrežje: http://www.ihps.si/ns_obvestila/vzorcenje-tal-za-osnovno-analizo/ (15.9.2018).

Karlen, D.L., Gardner, J.C., Rosek, M.J. (1998). A soil quality framework for evaluating the impact of CRP. *Journal of Production Agriculture* 11, str. 56 – 60.

Karlen, D. L., Ditzlerb, C. A., Andrews, S. S. (2003). Soil quality: why and how?. *Geoderma* 114, str. 145–156.

Kaštelan-Macan, M., (2008). Hrvatsko nazivlje u analitičkoj kemiji. Kemija u industriji: *Časopis kemičara i kemijskih inženjera Hrvatske*. Zagreb, 57 (4), str. 188.

Kmetijski inštitut Slovenije. Mineralne oblike dušika. Medmrežje: http://www.kis.si/Mineralne_oblike_dusika/ (5.9.2018).

Kovar J. L., Pierzynski G. M., (2009). Methods of Phosphorus Analysis for Soils, Sediments, Residuals, and Waters Second Edition. *Southern Cooperative Series Bulletin* No. 408, str. iv.

Mengel, K., Kirkby, E. A. (1987). Principles of Plant Nutrition, *International Potash Institute*, 686 str. V: Grčman, H., Zupan, M., (2010). Praktična pedologija. Center za pedologijo in varstvo okolja.

Peach, M., English, L., (1944). Rapid microchemical soil tests. Soil Science, *Cornell University*, Volume 57, Issue 3, str. 167–196. Medmrežje: https://journals.lww.com/soil_sci/Citation/1944/03000/RAPID_MICROCHEMICAL_SOIL_TESTS.1.aspx.

Pivk, B. (2011). Instrumentalne metode v analizi kemiji. Učno gradivo, Srednja šola za farmacijo, kozmetiko in zdravstvo, Ljubljana.

Pravilnik o monitoringu stanja tal, 007-230/2016.

Scheffer, F., Schachtschabel, P. (1948). *Lehrbuch der Bodenkunde*. Stuttgart, Enke: 442 str.

Sims, J., T. Soil Test Phosphorus: Principles and Methods, V: Kovar J. L., Pierzynski G. M., (2009). *Methods of Phosphorus Analysis for Soils, Sediments, Residuals, and Waters Second Edition. Southern Cooperative Series Bulletin No. 408*, str. 10.

Sušin J., 2009. Problemi pri gnojenju z dušikom v zaščiteneh prostorih. Kako smo se problema lotili na vodovarstvenem območju v Mestni občini Ljubljana. Izobraževanje za Kmetijsko svetovalno službo. Ljubljana, Kmetijski inštitut Slovenije.

Stritar, A. (1990). Krajina, krajinski sistemi. Raba in varstvo tal v Sloveniji.

Stritar, A. (1984). *Pedologija: Kompendij*. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, 45-55 str.

Uredba o mejnih vrednostih vnosa nevarnih snovi in gnojil v tla, Ur. l. RS, št. 84/05.

Uredba o stanju tal, 007-144/2015, 2016. Medmrežje: <https://mail.google.com/mail/u/0/#inbox/KtbxLrjCMLrMmCTXHMLSNVqlhDGMNGjxNq?projector=1&messagePartId=0.1>.

Vrščaj B., Sušin J., Šinkovec M., Grčman H., Mihelič R., Pongrac-Žnidaršič V., Bregar Z., Zupan M., Žlindra D., Simončič P., Vernik T., Gregorčič A., (2011). Strokovna in pravna izhodišča za vzpostavitev sistema zbiranja in obdelave podatkov preverjanja rodovitnosti tal (KRT), Ljubljana, *Kmetijski inštitut Slovenije*: 69.

Vrščaj B., (2017). Lastnosti, pestrost in ekosistemske storitve tal, Ministrstvo za okolje in prostor ter Kmetijski inštitut Slovenije, 23 str.

Zupan, M., Grčman, H., Lobnik, F., (2008). *Raziskave onesnaženosti tal Slovenije*. Ljubljana, Agencija RS za okolje.

Weil, R., R., Islam K., R, Stine, M., A., Gruver, J., B., Samson-Liebig, S., E. (2003). Estimating active carbon for soil quality assessment: A simplified method for laboratory and field use. *American Journal of Alternative Agriculture*18, (1), str. 3–17.

Medmrežje 1: <https://www.brecklandscientific.co.uk/EST-900-100-p/est-900-100.htm> (5. 9. 2018).

Medmrežje 2: https://webshop.ats-net.com/epages/ATS.sf/en_GB/?ObjectPath=/Shops/ATS/Products/202.02.2250 (23.1.2019).

Medmrežje 3: https://webshop.ats-net.com/epages/ATS.sf/en_GB/?ObjectPath=/Shops/ATS/Products/202.02.2230 (23.1.2019).

Medmrežje 4: https://webshop.ats-net.com/epages/ATS.sf/en_GB/?ObjectID=21395 (23. 1. 2019).

Medmrežje 5: https://webshop.ats-net.com/epages/ATS.sf/en_GB/?ObjectPath=/Shops/ATS/Products/202.02.2030 (23.1.2019).

Medmrežje 6: https://webshop.ats-net.com/epages/ATS.sf/en_GB/?ObjectPath=/Shops/ATS/Products/202.02.2270 (23.1.2019)

Medmrežje 7: <https://www.zgd.si/trgovina/akvaristika/nega-in-priprava-vode/testi-za-vodo/jbl-combiset-nh4/> (23.1.2019).

Medmrežje 8: <https://www.palintest.com/en/products/complete-soil-kit> (23.1.2019).

Medmrežje 9: <https://www.mn-net.com/StartpageWaterAnalysisTesting/VISOCOLOR/VISOCOLORReagentcases/VISOCOLORBodenkoffermitPF3/tabid/12457/language/de-DE/Default.aspx> (23.1.2019).