

## Das isotopisch austauschbare Phosphat im Boden

Phosphor (P) ist ein essentieller, d.h. lebensnotwendiger Nährstoff der Pflanzen. Der P-Bedarf eines üppigen Pflanzenbestandes von Weizen oder Zuckerrübe beträgt 20 bis 40 kg pro Hektar (ha) (1 ha= 10.000 m<sup>2</sup>, die übliche Flächeneinheit in der Landwirtschaft). Die Pflanzen nehmen dieses P normalerweise über die Wurzeln aus dem Boden auf.

Die Wurzeln der meisten Pflanzen wachsen einen Meter oder tiefer in den Boden hinein, aber der größte Anteil (60-80 %) befindet sich in den obersten 30 cm des Bodens, der Ackerkrume. In dieser Schicht haben wir 200 bis 1.000 mg P pro kg Boden, dies entspricht 800 bis 4.000 kg P pro ha, also ein Vielfaches des jährlichen Pflanzenbedarfs.

Der Boden ist ein poröses System, das zu ca. 50 % aus einer festen Phase, und je nach Feuchte und Textur (% Sand, % Schluff, % Ton) des Bodens zu 10 bis 40 % mit Wasser, d.h. der Bodenlösung (flüssige Phase), gefüllt ist und der Rest ist die Bodenluft (die Gasphase, die ähnlich der Außenluft ist, aber vor allem mit etwas mehr CO<sub>2</sub>).

Die feste Phase des Bodens besteht vor allem (meist 95-99 %) aus mineralischen Bestandteilen mit unterschiedlicher Körnung, auch Textur genannt. Die organischen Bestandteile, auch Humus genannt, nimmt die restlichen 1 bis 5 % ein. Die Teilchengröße in der Tonfraktion ist kleiner 2 µm, in der Schlufffraktion beträgt sie 2 bis 63 µm und in der Sandfraktion 63 bis 2.000 µm. Die chemischen Bestandteile der Festphase sind u.a. Silikate, Eisen- (Fe) und Aluminium- (Al) Oxide oder Hydroxide sowie Calcium-Salze.

Phosphor befindet sich nahezu ausschließlich in der festen Phase des Bodens und nur 0,1 bis 1,0 kg P / ha in der flüssigen Phase, d.h. der Bodenlösung.

Die Pflanze kann aber nur dieses in der Bodenlösung gelöste P aufnehmen und da dieses für den Bedarf der Pflanze nicht ausreicht, ist es wichtig zu wissen, welche Beziehungen zwischen P in der festen Phase und P in der Lösung besteht.

Circa 50 % des P sind im Humus des Bodens eingebaut und nicht unmittelbar für die Pflanzen nutzbar. Die restlichen 50 % liegen als äußerst schwer lösliche Salze des Ca, Fe oder Al vor, die auch bei Störung des Gleichgewichts nur sehr langsam gelöst werden. Ein anderer Teil des P ist an die Oberflächen der Bodenteilchen, vor allem an Fe- und Al-Oxide und z.T. an Calciumcarbonat (CaCO<sub>3</sub>) gebunden, oder wie man auch sagt: sorbiert. Dieses sorbierte P steht in einem relativ raschen Austausch mit dem P der Bodenlösung, d.h., es besteht ein dynamisches Gleichgewicht zwischen sorbiertem P und P in der Bodenlösung. Dies ist wichtig für die P-Ernährung der Pflanzen, denn wenn die Wurzel P aus der Bodenlösung aufnimmt, kann wegen des dynamischen Gleichgewichts rasch neues P in die Bodenlösung nachgeliefert werden, das dann von der Pflanze aufgenommen werden kann. Somit ist auch dieses sorbierte, rasch austauschbare P als pflanzenverfügbar anzusehen.

Das sorbierte, in raschem Austausch mit der Bodenlösung stehende P, kann nicht dadurch bestimmt werden, indem es mit einem anderen Anion, z.B. Cl<sup>-</sup> oder SO<sub>4</sub><sup>-</sup>, ausgetauscht wird, weil P (als H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup> oder HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) spezifische Bindungen mit den Oberflächen der Bodenteilchen eingeht. Gibt man aber <sup>33</sup>P (als H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup> oder HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) dem Boden zu, so wird sich dieses in der Bodenlösung lösen und sofort mit dem sorbierten P austauschen. Der größte Teil dieses Austausches geschieht relativ rasch, innerhalb von ca. 1 Stunde. Aber bei längerer Reaktionszeit erhöht sich die P-Menge die sich mit dem <sup>32</sup>P/<sup>33</sup>P austauscht. Die Menge, die sich mit dem <sup>33</sup>P austauscht nennt man isotopisch austauschbares Phosphat oder isotopisch austauschbares P.

## Methodik

### Bestimmung des isotopisch austauschbaren P ( $P_{\text{isot.-aust.}}$ )

- 1 g Boden (möglichst genau) werden in einen 13-mL-Zentrifugenbecher eingewogen.
- 7 mL  $\text{CaCl}_2$  (0,01 mol / L) zugeben
- 1 mL  $^{33}\text{P}$ -Lösung auch in  $\text{CaCl}_2$  (0,01 mol / L) zugeben
- 1 Stunde liegend schütteln
- Zentrifugieren (10 min, 5000 rpm)
- 3 ml des Überstandes abnehmen und in ein 6-mL-Kunststoffgefäß geben, Rest später verwerfen.
- Im Überstand werden die  $^{33}\text{P}$ -Radioaktivität (Szintillator) und die P-Konzentration (Fotometer) messen.

### Radioaktivitätsmessung

- Pipettieren Sie 100  $\mu\text{L}$  des Überstands in ein Szintillationsgefäß mit Szintillationsflüssigkeit. Messen Sie die Radioaktivität (DPM bzw. Bq).

### Messung der P-Konzentration

Erstellen Sie eine Kalibrationsreihe von 0 bis 1  $\mu\text{g P} / 0,84 \text{ mL}$  (+0,16 ml Färbereagenz). Die Stammlösung hat eine  $^{31}\text{P}$ -Konzentration von 5  $\mu\text{g P} / \text{mL}$ .

Das „Färbereagenz“ wird gestellt.

Kalibrationsreihe

$^{31}\text{P}$ -Konz. (C) $\mu\text{g} / \text{mL}$	0,84 ml		Färbereagenz $\mu\text{L}$	Extinktion (E)	Ext. Koeffizient ( $\epsilon$ )
	Stammlösung $\mu\text{L}$	$\text{CaCl}_2$ (0,01M) $\mu\text{L}$			
0	0	840	160		
0,1	20	820	160		
0,2	40	800	160		
0,4	80	760	160		
0,6	120	720	160		
0,8	160	680	160		
1,0	200	640	160		
				$\epsilon$ (Mittelwert) =	

Messen Sie die Extinktion E, nach ca. 30 Minuten, bei 882 nm.

Bestimmen Sie den Extinktionskoeffizienten ( $\epsilon$ ). Er ergibt sich aus dem Lambert-Beerschen Gesetz ( $E = \epsilon d c$ ), d ist die Weglänge in der Küvette (hier 1 cm).

➔  $\epsilon = E / c$

P-Konzentration im Überstand

Pipettieren Sie 840 µL des Überstandes in die Messküvette und vervollständigen Sie mit 160 µL des Färbereagens. Durchmischen Sie die Flüssigkeiten. Nach ca. 30 Minuten wird die Extinktion gemessen. Berechnen Sie die P-Konzentration im Überstand; berücksichtigen Sie dabei auch die eventuell durchgeführten Verdünnungen.

**CAL-P** = mit Ca-Acetat-Lactat extrahierbares P. In Deutschland verwendete Methode um das „pflanzenverfügbare“ P zu ermitteln.

**P<sub>L</sub>** = P in der Lösung, µg / mL

**P<sub>F</sub>** = an die feste Phase des Bodens austauschbar gebundenes P, µg / g

**SA** = spezifische Aktivität, Bq / µg P

**Weitere Grundlagen**

Wir gehen von folgender Annahme aus:

$$\frac{{}^{31}P_L}{{}^{33}P_L} = \frac{{}^{31}P_F}{{}^{33}P_F}$$

Diese Gleichung besagt, dass die verschiedenen Isotope sich gegenseitig

austauschen und da wir wissen, wie viel radioaktives P wir zugegeben haben und andererseits in der Lösung das Verhältnis der Isotope messen können, können wir auch berechnen, wie viel P an die feste Phase gebunden ist. Da wir davon ausgehen können, dass nahezu das gesamte radioaktive P an der festen Phase verbleibt, brauchen wir den gelösten Teil nicht extra in die Berechnung mit einbeziehen. So ergibt sich:

$${}^{31}P_F = \frac{{}^{31}P_L}{{}^{33}P_L} \times {}^{33}P_F = \frac{{}^{33}P_F}{SA}$$

${}^{33}P_F$  =  ${}^{33}P$ -Zugabe (Bq/g Boden), da nahezu das gesamte  ${}^{33}P$  an die feste Phase gebunden wird.

**LARI Laborblatt**

Eingesetzte P-33 Aktivität:		DPM / 10 µl =		Bq / 10 µl		
		=		${}^{33}P$ [Bq / ml]		
Bodenbeschreibung:						
Proben-Nr	Einwaage [g]	DPM / 100 µl	${}^{33}P$ [Bq / 1 ml]	Extinktion [882 nm]	P-Konzentration [µg / 840 µl]	P-Konzentration [µg / ml]

## Bestimmungen des isotopisch austauschbaren P des Bodens

Labor Nr.	Proben Nr.	Boden- beschreibung	Gesamt P µg / g	CAL-P µg / g	<sup>33</sup> P Zugabe Bq / g	<sup>31</sup> P <sub>L</sub> P-Konz. Überstand µg / mL	<sup>31</sup> P <sub>F</sub> im Überstand Bq / mL	Spezif. Akt. Bq / µg	<sup>31</sup> P <sub>F</sub> Isot.aust. P µg / g	P-Pufferung <sup>31</sup> P <sub>F</sub> / <sup>31</sup> P <sub>L</sub>	% des isot-aust P an P-Gesamt
1	1	Sand P-60	268	81							
2			268	81							
3			268	81							
4			268	81							
5	2	Sand P-200	396	170							
6			396	170							
7			396	170							
8			396	170							
9	3	Lehm P-60	717	50							
10			717	50							
11			717	50							
12			717	50							
13	4	Lehm P-200	868	127							
14			868	127							
15			868	127							
16			868	127							

**CAL-P** = mit Ca-Acetat-Lactat extrahierbares P. In Deutschland verwendete Methode um das „pflanzenverfügbare“ P zu ermitteln.

**P<sub>L</sub>** = P in der Lösung,  $\mu\text{g} / \text{mL}$

**P<sub>F</sub>** = an die feste Phase des Bodens austauschbar gebundenes P,  $\mu\text{g} / \text{g}$

**SA** = Spezifische Aktivität,  $\text{Bq} / \mu\text{g P}$

$^{33}\text{P}$  und  $^{32}\text{P}$  = radioaktives Phosphat

$^{31}\text{P}$  = nicht radioaktives Phosphat

Boden: \_\_\_\_\_

Einwaage: ca. 1 g

P-33: 1 ml

CaCl<sub>2</sub>: 7 ml

DPM = 0-Wert

**eingesetzt:**

DPM / 10 µl	minus 0-Wert	Mittelwert	Bq/ 10 µl	Bq/ 1 ml	KBq/ 1 ml			

**Bodenproben:**

Nr.:	DPM / 100 µl Überstand	minus 0-Wert	Mittelwert	Bq/ 100 µl	Bq/ 1 ml	KBq/ 1 ml	KBq/ 8 ml	Einwaage [g]	KBq/ 1 g
-1									
-2									
-3									
-4									