

# Extraktion mit Ammoniumacetat + EDTA (1:10)

Version 3.2 (2020)

Code der Referenzmethode	AAE10-Ex		Mögliche Einsatzbereiche
Einsatzbereich	Düngeberatung	Ackerkulturen und Grasland	x
		Gemüsebau (Freiland / Gewächshaus)	x
		Weinbau, Obstbau, Beerenanbau, Gewürz- und Medizinalpflanzen	x
	Standortcharakterisierung		
	Schadstoffbeurteilung		x
	Recyclingdünger	Kompost	
		Gärgut fest	
		Gärgut flüssig	
		Klärschlamm	
	Hofdünger	Mist	
		Gülle	
Mineraldünger			
Pflanzenkohle			
Forschungsmethoden			
Rechtliche Grundlagen / Vollzugshilfen	Messung von Nährstoffgehalten für den ökologischen Leistungsnachweis (ÖLN) laut der Direktzahlungsverordnung (DZV, Anhang 1, Ziffer 2) und für Düngeberatung laut den Grundlagen für die Düngung landwirtschaftlicher Kulturen in der Schweiz (GRUD).		
Zulassungskriterien für Labors	Die Grenzen des Ringversuches PEP (WEPAL) werden eingehalten. Jährlich wird eine aktuelle Liste der für den ökologischen Leistungsnachweis zugelassenen und für Bodenuntersuchungen zur Düngeberatung empfohlenen Labors auf den Internetseiten von Agroscope und BLW publiziert.		
Analysenprogramm	Probennahme	AF-PN, OW-PN	
	Probenaufbereitung	AF-OW-PA	
	Aufschluss	AAE10-Ex	
	Messung	AAE10-P, AAE10-K-Mg-Ca	

Konzentrations- / Messbereich	
Angabe der Ergebnisse	
Äquivalente Methoden	Konventionmethode. Extraktion kann durch keine andere Extraktion ersetzt werden.
Sicherheit / Umwelt	Extrakte und Extraktionslösungen müssen als Sonderabfall entsorgt werden.



# Extraktion mit Ammoniumacetat + EDTA (1:10)

## 1. Prinzip

Bodenproben werden mit einer Lösung von Ammoniumacetat und EDTA von pH 4.65 unter genau definierten Bedingungen extrahiert um im Extrakt gewisse Fraktionen von Nährstoffen (P, K, Mg, Ca) und Schwermetallen zu bestimmen.

## 2. Durchführung

### Apparaturen und Geräte

- (A) Temperaturkonstanter Raum für die Extraktion:  $23 \pm 1$  °C
- (B) Waagen (0.01 bzw. 0.1 g Teilung) und pH-Meter
- (C) Kunststoff-Flaschen 500 ml mit Schraubverschluss
- (D) Schüttelmaschine:  
Längsschüttelmaschine, Amplitude (Hub) 50 mm, 120 Bewegungen/min  
Flaschen liegen längs in Schüttelrichtung.
- (E) Trichter ( $\varnothing$  100 mm)
- (F) Faltenfilter  $\varnothing$  185 mm „geeignet für die Bodenanalytik“. 50 ml einer neutralen 0.0125 M  $\text{CaCl}_2$ -Lösung müssen nach dem Durchlauf einen pH von 4.1-4.5 aufweisen.

### Reagenzien

- (1) Demineralisiertes Wasser ( $\text{H}_2\text{O}$ , Leitfähigkeit  $< 5 \mu\text{S/cm}$  bei der Extraktion von Nährstoffen, bzw.  $< 1 \mu\text{S/cm}$  bei der Extraktion von Schwermetallen)
- (2) Ammoniumacetat p.a. ( $\text{CH}_3 \text{COO NH}_4$ ,  $M = 77.08 \text{ g/mol}$ )
- (3) Essigsäure puriss. p.a. ( $\text{CH}_3 \text{COOH}$ ,  $M = 60.05 \text{ g/mol}$ ,  $d = 1.05$ ,  $17.5 \text{ mol/L}$ )
- (4) Ethylendiamin-Tetraessigsäure (EDTA) p.a. ( $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_8$ ,  $M = 292.25 \text{ g/mol}$ )  
(Andere Namen für EDTA: Ethylendinitrilotetraessigsäure, Komplexon II, Titriplex II)
- (5) Ammoniaklösung 25 % p.a. ( $\text{NH}_3$ ,  $M = 17.03$ ,  $d = 0.91$ ,  $13.4 \text{ mol/L}$ )
- (6) Extraktionslösung:  
Für 10 L Extraktionslösung: 385.40 g Ammoniumacetat (2) in ca. 7000 ml  $\text{H}_2\text{O}$  (1) lösen. 286 ml Essigsäure (3) und 58.45 g EDTA (4) zugeben. Nach vollständiger Lösung den pH-Wert bei Raumtemperatur (A) durch tropfenweises Zugeben von Ammoniaklösung (5) auf den Wert 4.65 einstellen. Mit  $\text{H}_2\text{O}$  (1) auf 10 L auffüllen.

*Anmerkung: Wenn der pH-Wert nach der Zugabe von EDTA höher als 4.65 ist, sind die Reagenzien zu überprüfen.*

### Arbeitsvorschrift

10.0 g getrocknete Feinerde in die Flasche (C) einwiegen (B). 100 ml auf Raumtemperatur (A) eingestellte Extraktionslösung (6) zugeben und sofort während 60 Minuten auf der Schüttelmaschine (D) schütteln. Anschliessend die Bodensuspension durch den Faltenfilter (E,F) während 1 Stunde in das Auffanggefäss (G) abfiltrieren.

Extraktion und Filtration erfolgen bei der vorgegebenen konstanten Raumtemperatur (A).

Im klaren Filtrat werden die Konzentrationen von P, K, Mg und Ca sowie von Schwermetallen bestimmt.

### 3. Bemerkungen

Für die Untersuchung von Schadstoffen ist diese Methode nur bei kalkfreien Böden anwendbar (Zur Definition von „kalkfrei“ siehe Methode CaCO<sub>3</sub>).

Aufgrund der starken Temperaturabhängigkeit während der Extraktion ist die vorgegebene Raumtemperatur exakt einzuhalten (siehe Kapitel 4e).

Ebenso ist eine sorgfältige Einstellung des pH-Wertes wichtig, da dieser die P-Resultate beeinflusst (siehe Kapitel 4g). Die Angabe des pH-Wertes (4.65) bezieht sich auf die eingesetzte Extraktionslösung. Der pH-Wert des Extrakts kann bei kalkhaltigen Böden deutlich ansteigen (siehe Kapitel 4a).

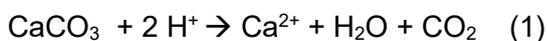
Es gibt Proben, die mit der Methode AAE10-Ex *keine reproduzierbaren P-Gehalte* in den Extrakten geben. Die Ursache dieser Schwankungen bis zu einem Faktor 2 ist noch unbekannt, liegt aber nicht an der Messmethode (siehe Kapitel 4d).

Mit sorgfältig aufbereiteten, homogenen Proben kann die Einwaage auf 5 g reduziert werden, wobei 50 ml Extraktionslösung eingesetzt werden, 200-250 ml Extraktionsflaschen und Filterpapiere von 150 mm Durchmesser, sowie ein kleineres Auffanggefäss (vergleiche Kapitel 2, Punkte D, F und G). Die Extraktionslösung und die Extrakte müssen als Sondermüll entsorgt werden.

### 4. Validierung

#### (4a) Allgemeines

- pH-Einstellung: Die Extraktionslösung enthält je 0.5 M Ammoniumacetat und Essigsäure. Zusätzlich wird die vollständig protonierte Form der EDTA (0.02 M) zugegeben, die als relativ starke 2-protonige Säure wirkt (pK<sub>a</sub>-Werte von H<sub>4</sub>EDTA = 2.0, 2.7, 6.2, 10.3). Deshalb ist eine Zugabe von Ammoniak für die Erreichung von pH 4.65 (pK<sub>a</sub> von Essigsäure) notwendig.
- Kalkhaltige Böden: 100 ml 0.5 M Essigsäure (=0.05 Mol) können 0.025 Mol Kalk lösen (2.5 g); dies entspricht einem Boden mit 25% Kalk = 100'000 ppm Ca (siehe auch Methode AAE10-K-Ca-Mg)



Das sich bildende CO<sub>2</sub> führt zu einem Überdruck. Deshalb müssen die Extraktionsflaschen sorgfältig geöffnet werden.

Bei kalkhaltigen Böden führt die Reaktion (1) zu einer Erhöhung des pH-Wertes in das Puffergebiet CO<sub>2</sub> + H<sub>2</sub>O = HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> + H<sup>+</sup>, beispielsweise zu pH 5.5 bei einer Probe mit 25% Kalk.

#### (4b) Robustheit: Flaschengrösse

Mit 10 g Einwaage und 100 ml Extraktionslösung zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in den Resultaten, wenn statt der 500ml-Extraktionsflasche (C) eine 200ml-Kunststoffflasche verwendet wurde. Allerdings ist bei kalkhaltigen Proben der Druckaufbau in kleinen Flaschen signifikant.

#### (4c) Robustheit: Einwaage

Mit 5 g Einwaage (50 ml Extraktionslösung, 200-250 ml Extraktionsflaschen und 150mm-Filterpapier) wurden dieselben Resultate für P, K, Mg und Ca erhalten, wie mit 10 g Einwaage (100 ml Extraktionslösung, 500 ml Extraktionsflaschen und 185mm-Filterpapier), siehe Tabelle 1.

Die Untersuchung basiert auf 126 verschiedenen Böden (pH: 5.5-8.6, Kalk: 0-26%, Humus: 1-20%, Ton: 8-68%, Schluff: 5-65%, Sand: 2-74%) durchschnittlich je 3-fach mit 5 und 10 g Einwaage extrahiert. Die mittlere Differenz ist überall 0 mg/kg Boden resp. 0%, ausser bei Ca: 9 mg/kg Boden.

Bei Phosphor wurden 7 „Problemproben“ (siehe 4d) nicht berücksichtigt. Diese gaben durchschnittlich gleiche Resultate mit 10 und 5 g Einwaage und die mittleren Variationskoeffizienten betragen 16% (10g) bzw. 19% (5g).

**Tabelle 1: Vergleich der Resultate und Reproduzierbarkeit bei AAE10-Extraktion mit 5 und 10 g Einwaage.**

Analyt	Gehaltsbereich	Differenz 5g - 10g Einwaage 5% ÷ 95% Quantil		Mittlere Std. Abw. mit Einwaage		Variationskoeff. mit Einwaage		Anzahl
		mg / kg Boden	%	5g	10g	5g	10g	
	mg / kg Boden	mg / kg Boden	%	mg / kg Boden		%		
<b>P</b>	4 ÷ 30	-0.7 ÷ 1.1		0.7	0.5			27
	4 ÷ 150	-4 ÷ +3		2.6	2.0			115
	15 - 280		-5 ÷ +4			4.7	3.4	109
<b>K</b>	15 ÷ 300	-5 ÷ +5		2.1	3.2			118
	40 ÷ 824		-4 ÷ +5			1.9	2.6	116
<b>Mg</b>	34 ÷ 500	-5 ÷ +5		2.7	2.9			110
	60 ÷ 1168		-5 ÷ +4			2.3	2.5	103
<b>Ca</b>	500 ÷ 10'000	-144 ÷ +282		78	65			72
	2'000 ÷ 95'000		-4 ÷ +5			3.1	2.6	93

**(4d) Limitierung: „Problemproben“**

Es gibt Proben, die mit AAE10-Ex keine reproduzierbare P-Gehalte in den Extrakten liefern. Aus einem Versuch gaben 8 Proben Resultate, die um bis zu einem Faktor 2 (!) schwankten. (Beispielsweise wurden für *eine* Probe folgende Resultate gefunden: 63, 69, 96, 77, 72, 131, 90, 101, 80, 76, 119 g P / kg Boden.) Abgesehen von den 8 Problemproben waren 71 Mehrfachbestimmungen aus diesem Versuch gut bis akzeptabel und bei 5 Proben fraglich.

Dies ist *nicht* ein Messproblem, da verschiedene Messmethoden (Heiss- und Kaltfärbung) an denselben Extrakten gleiche Resultate ergaben, ebenso fand man mit 2 Extrakten gute Übereinstimmung von Farb-reaktion und ICP-AES.

Die Häufigkeit solcher „Problemproben“ kann nicht abgeschätzt werden, da diese nur bei einer mindestens 5fachen Bestimmung sicher als solche erkannt werden können.

**(4e) Limitierung: Temperatur**

64 verschiedene Proben wurden je 3-4fach bei 16° und 27° extrahiert und filtriert (Siehe Tabelle 2): Eine Erniedrigung der Extraktionstemperatur führte nur bei Phosphor in kalkfreien Proben zu einer systematischen, signifikanten Abnahme des Resultats. Bei Ca führt dies zu einer Zunahme. Bei Mg zeigten 20 Proben eine deutliche Erhöhung des Resultats, 7 eine deutliche Abnahme, ohne Relation zu pH, Kalk, Körnung oder Humus.

Die Erhöhung der Extraktionstemperatur führte bei Phosphor in kalkfreien Proben, sowie bei Mg und Ca zu einer Zunahme des Resultats.

**Tabelle2: Abweichungen (absolut und relativ) der Resultate für Extraktion bei 16°C und 27°C verglichen mit 23°C.**

Je Mittelwert und Standardabweichung. Bereich von 2.-kleinstem bis 2.-grösstem Wert

Analyt	Gehaltsbereich mg / kg Boden	Einheit	Abweichung bei 16°C		Abweichung bei 27°C		Anzahl
			Mittelwert	Bereich	mg/kg	Bereich	
<b>P</b>	4 ÷ 162, kalkfrei	mg/kg Bod.	-6 ± 4	-17 ÷ -1	+7 ± 5	+1 ÷ 18	34
	12 ÷ 162, kalkfrei	%	-13 ± 5	-18 ÷ -5	+13 ± 4	+7 ÷ 19	32
	3 ÷ 277, kalkhaltig	mg/kg Bod.	0 ± 1	-3 ÷ 1	+2 ± 3	0 ÷ 7	20
	8 ÷ 280, kalkhaltig	%	0 ± 2	-3 ÷ 3	+4 ± 2	+1 ÷ 6	19
<b>K</b>	14 ÷ 477	mg/kg Bod.	-2 ± 2	-6 ÷ 3	+3 ± 3	-2 ÷ 7	60
	50 ÷ 659	%	-2 ± 2	-8 ÷ 1	+2 ± 3	-2 ÷ 9	53
<b>Mg</b>	34 ÷ 400	mg/kg Bod.	-3 ± 5	-3 ÷ +17	+11 ± +8	+2 ÷ +30	41
	50 ÷ 1150	%	-1 ± 5	-17 ÷ +7	+8 ± +4	+2 ÷ +17	55
<b>Ca</b>	500 ÷ 5'000	mg/kg Bod.	+114 ± 112	-8 ÷ +347	+130 ± 96	+9 ÷ 321	29
	2'000 ÷ 95'000	%	+5 ± 3	0 ÷ +11	+5 ± 3	-1 ÷ +11	45

**(4f) Limitierung: Rührintensität**

Untersuchungen der RAC haben gezeigt, dass die extrahierte Menge direkt von der Rührintensität (zugeführte Energie) abhängt. Die vorgegebene Schüttelmethode ist deshalb einzuhalten.

**(4g) Limitierung: pH-Wert**

Der Einfluss des pH-Wertes wurde durch zwei leicht geänderte Extraktionslösungen mit nur 280 statt 286 ml Essigsäure getestet: Die erste wurde so gelassen und wies pH = 4.60 auf. Der zweiten wurden 40 ml Ammoniak zugegeben; sie enthielt 10% mehr Ammonium und hatte pH = 4.73.

55 Proben (je doppelt bis 3fach extrahiert) zeigten bei pH 4.6 verglichen mit pH 4.7 durchschnittlich 5% Erhöhung des Phosphorgehaltes, vermutlich durch bessere Lösung von Phosphaten bei tieferem pH. Für K liefert der höhere pH-Wert leicht grössere Werte (2%), vermutlich wegen des höheren  $\text{NH}_4^+$ -Gehaltes. Bei Ca zeigten nur Proben mit AAE10-Ca > 80'000 mg/kg Boden eine signifikante Erhöhung der Gehalte (9%), da die Sättigung der Kalklösung durch den tieferen pH-Wert angehoben wird. Die tieferen Ca-Werte und die Mg-Werte zeigten im Durchschnitt keine signifikanten Unterschiede.

**(4h) Wirkung der EDTA**

Die Notwendigkeit der EDTA wurde getestet mit einer Serie von 90 Proben. Das Weglassen der EDTA hatte keinen signifikanten Einfluss auf die gefundenen Gehalte an K, Mg und Ca. Jedoch reduzierten sich die extrahierten P-Gehalte um  $61\% \pm 12\%$ .

## 5. Historie

Version	Art der Änderung	neu	bisher
Version 1 (1995)	Erstellung Methode		
Version 1.1 (1996)	Editorisch		
Version 1.2 (1997)	Editorisch		
Version 1.3 (1998)			
Version 2.0 (1999)	Änderung Einsatzbereich	Spezialkulturen	Obst-, Wein- und Gartenbau
Version 3.0 (2001)	Überarbeitung Methode	Validierung	
Version 3.1 (2009)	Überarbeitung	Faltenfilter: Definition entsprechend CO <sub>2</sub> -Ex und H <sub>2</sub> O <sub>10</sub> -Ex	
Version 3.2 (2020)	editorisch	Elektronische Veröffentlichung mit geändertem Layout	

### Impressum

Herausgeber	Agroscope Reckenholzstrasse 191 8046 Zürich <a href="http://www.agroscope.ch/referenzmethoden">www.agroscope.ch/referenzmethoden</a>
Auskünfte	Diane Bürge
Copyright	© Agroscope 2020