

MAGDALENA PALACZ

ZASTOSOWANIE SPEKTROMETRII FLUORESCENCJI RENTGENOWSKIEJ CAŁKOWITEGO ODBICIA (TXRF) DO OZNACZANIA ZAWARTOŚCI KRZEMU W MATERIALE ROŚLINNYM

Streszczenie

Liczne opracowania naukowe, w których wykazano dobroczynne działanie krzemu na rośliny, świadczą o wzrastającym zainteresowaniu rolą krzemu w kontekście wpływu na wzrost i prawidłowy rozwój roślin. Wskazują również na potrzebę uzupełniania tego pierwiastka w podłożu podczas produkcji roślinnej.

Celem badań było dopracowanie metody przygotowania próbek materiału roślinnego i oznaczenie w nich zawartości krzemu z zastosowaniem spektrometrii fluorescencji rentgenowskiej całkowitego odbicia. Próbki materiału roślinnego, w skład którego wchodziły liofilizowane i suszone liście szalwii lekarskiej (*Salvia officinalis*), suszone liście skrzypu polnego (*Equisetum arvense*) i suszone liście pokrzywy zwyczajnej (*Urtica dioica*), poddano analizie pierwiastkowej. Próbki suszu roślinnego roztwarzano z wykorzystaniem mieszaniny stężonego kwasu azotowego(V) oraz nadtlenu wodoru w mineralizatorze mikrofalowym. Analizę zawartości krzemu w próbkach przeprowadzono przy użyciu spektrometru fluorescencji rentgenowskiej całkowitego odbicia (TXRF). Zawartość krzemu w próbkach szalwii lekarskiej wynosiła 0,2 %, w próbkach pokrzywy zwyczajnej – ponad 0,5 %, a w próbkach skrzypu polnego – ok. 1,4 %. W celu potwierdzenia i uzupełnienia otrzymanych informacji zgromadzony materiał roślinny poddano także analizie mikroskopowej z zastosowaniem skaningowego mikroskopu elektronowego, umożliwiającego również określenie składu pierwiastkowego w mikroobszarze dzięki spektrometrii dyspersji energii wtórnego promieniowania rentgenowskiego. Wykonano fotografie mikroskopowe oraz analizę składu pierwiastkowego próbek materiału roślinnego w mikroobszarze, a przeprowadzone analizy pozwoliły na wykazanie obecności krzemu w trzech próbkach badanego materiału roślinnego: szalwii uprawianej w sposób konwencjonalny, pokrzywy i skrzypu polnego.

Słowa kluczowe: szalwia lekarska, skrzyp polny, pokrzywa zwyczajna, krzem, liofilizacja, TXRF, SEM

Wprowadzenie

Dotychczas w publikacjach naukowych dużo uwagi poświęcano roślinom bogatym w krzem, takim jak pokrzywa, rdest ptasi, podbiał czy skrzyp polny ze względu na

możliwość wykorzystania ich jako źródła tego pierwiastka w prawidłowej i zbilansowanej diecie człowieka. Liczne opracowania naukowe wykazujące dobroczynne działanie krzemu na rośliny dowodzą wzrastającego zainteresowania zarówno rolą krzemu w kontekście wpływu na wzrost i prawidłowy rozwój rośliny, jak również suplementacją tego pierwiastka podczas produkcji roślinnej.

Dodatek krzemu był pomijany podczas nawożenia roślin, ponieważ powszechnie uważano, że w przeciwieństwie do makro- i mikroelementów nie jest pierwiastkiem niezbędnym do wzrostu roślin. Makroelementy, m.in. azot, potas, wapń, magnez, fosfor i siarka, to pierwiastki, których zawartość w suchej masie przewyższa 0,1 %. Do mikroelementów zalicza się pierwiastki występującego w ilości poniżej 0,1 % suchej masy, tj. chlor, żelazo, miedź, cynk, bor, mangan oraz nikiel [9].

Najwięcej krzemu, ok. 3 %, kumulują rośliny zbożowe (np. pszenica), natomiast w roślinach dwuliściennych zawartość tego pierwiastka wynosi poniżej 0,5 % suchej masy. Krzem, mimo że nie jest jednoznacznie zaliczany ani do mikroelementów ani do makroelementów, korzystnie wpływa na rozwój układu korzeniowego roślin uprawnych. Wysycenie tkanek roślin krzemionką zwiększa ich wytrzymałość na uszkodzenia mechaniczne powodowane warunkami atmosferycznymi. Dzięki usztywnieniu liści i łodyg wzrasta też odporność na porażenia wywołane przez patogeny chorobotwórcze i inwazje szkodników. Dodatkowo wzmacnia syntezę barwników asymilacyjnych, co znajduje potwierdzenie w wyższej wydajności fotosyntezy i wpływa na szybszy i bujniejszy rozwój rośliny. Sztywniejsze łodygi podnoszą również odporność rośliny na stres spowodowany niedostatkami wody oraz wywołany gwałtownymi wahaniami temperatur w okresie wczesnowiosennym [4].

Zawartość krzemu w skorupie ziemskiej wynosi ok. 26 % [2]. Pierwiastek ten w glebie występuje przede wszystkim w postaci krzemionki i różnego rodzaju krzemianów, praktycznie nierozpuszczalnych w wodzie, co utrudnia pobieranie go przez roślinę bezpośrednio z podłoża. Przystawalność tego pierwiastka z gleby wzrasta wraz z wilgotnością podłoża i aktywnością mikroorganizmów glebowych oraz w dużej mierze zależy od jego formy dostępnej dla rośliny [3]. Krzem w wodzie występuje w bardzo małym stężeniu, ze względu na słabą rozpuszczalność związków krzemu. Jedynie wody termalne można uznać za bogate w ten składnik, ponieważ stężenie tego pierwiastka może sięgać tam nawet 600 mg/l [2].

Wyjątkiem, który decyduje o konieczności suplementacji związkami krzemu, jest uprawa hydroponiczna roślin. Jest to rodzaj uprawy w kulturze wodnej, gdzie tradycyjne podłoże glebowe zastępuje się materiałem mineralnym, obojętnym chemicznie i niemającym wpływu na rozwój roślin, służącym tylko do utwierdzenia korzeni. Rośliny pobierają składniki odżywcze oraz sole mineralne rozpuszczone w wodzie z tzw. pożywki [8].

Borkowski i wsp. [1] dowiedli zależności pomiędzy stosowaniem w uprawie roślin związków krzemu a aktywnością naturalnych systemów obronnych roślin, stymu-

lacją ich wzrostu i rozwoju oraz wzmocnieniem tkanek. W celu potwierdzenia i uzupełnienia wyników badań polowych przeprowadza się ilościową analizę zawartości krzemu w roślinach suplementowanych krzemem oraz w roślinach kontrolnych, którym nie były podawane nawozy na bazie związków krzemu. Ilościowe oznaczanie tego pierwiastka w roślinach stało się przedmiotem zainteresowania naukowców w ciągu kilku ostatnich lat. Zagadnienie to jest istotne dla wielu różnych dyscyplin i dziedzin, w tym nie tylko dla rolnictwa, ogrodnictwa czy botaniki, ale także dla biochemii, agronomii czy biotechnologii.

Próbki materiału roślinnego do analizy pierwiastkowej przygotowuje się w określony sposób, zgodnie z jedną z powszechnie stosowanych metod, takich jak: suche spopielenie [7], trawienie na mokro z wykorzystaniem stężonych kwasów [5], roztwarzanie kwasami wspomagane mikrofalami [7]. Najczęściej stosowane techniki analityczne umożliwiające oznaczanie stężenia pierwiastków w materiale roślinnym to m.in. optyczna spektrometria emisyjna z plazmą wzbudzoną indukcyjnie (ICP-OES, ang. *inductively coupled plasma optical emission spectrometry*), atomowa spektrometria absorpcyjna (AAS, ang. *atomic absorption spectrometry*) [6], rentgenowska spektrometria fluorescencyjna (XRF, ang. *X-ray fluorescence*) [5] oraz spektrometria fluorescencji rentgenowskiej całkowitego odbicia (TXRF, ang. *total reflection X-Ray fluorescence*) [6]. Analiza pierwiastkowa suszu roślinnego może być przeprowadzana z użyciem uzupełniających się wzajemnie aparatów pomiarowych. ICP-OES znajduje zastosowanie przede wszystkim w analizie składu pierwiastkowego wody, klarownych próbek ciekłych oraz stałych po mineralizacji. Próbki zawiesin bądź nieklarowne roztwory próbek stałych po mineralizacji analizowane są przy użyciu spektrometru fluorescencji rentgenowskiej całkowitego odbicia (TXRF). Wybór metody analitycznej warunkuje sposób przygotowania próbki do badań. Najczęściej i najpowszechniej stosowaną metodą jest technika mineralizacji próbki stałej, z wykorzystaniem odpowiedniej ilości stężonych kwasów w warunkach podwyższonej temperatury i ciśnienia, z zastosowaniem mikrofal. Roztworzenie próbek stałych, których matrycą jest krzemionka, glinokrzemiany bądź inne minerały zawierające związki krzemu, wspomagane jest dodatkiem stężonego kwasu fluorowodorowego. Postępowanie to umożliwia rozpuszczenie związków krzemu trudno rozpuszczalnych w kwasach, co niestety wiąże się ze znacznymi stratami i ubytkiem tego pierwiastka z próbki podczas mineralizacji, nawet przeprowadzanej w układzie zamkniętym. Z uwagi na ten problem przygotowanie próbek materiału roślinnego do oznaczania zawartości krzemu musiało zostać zmodyfikowane i udoskonalone.

Celem przeprowadzonych badań było dopracowanie metody przygotowania próbek materiału roślinnego i oznaczenie w nich zawartości krzemu z zastosowaniem spektrometrii fluorescencji rentgenowskiej całkowitego odbicia.

Material i metody badań

Oznaczanie zawartości krzemu wykonywano w próbkach ziół: szalwii lekarskiej (*Salvia officinalis*) pochodzącej z uprawy hydroponicznej, szalwii lekarskiej (*Salvia officinalis*) uprawianej w sposób tradycyjny, a także suszu pokrzywy zwyczajnej (*Urtica dioica*) – Dary Natury, Polska – oraz suszu skrzypu polnego (*Equisetum arvense*) – Dary Natury, Polska – użytych jako próby kontrolne, w których zgodnie z danymi literaturowymi spodziewano się znacznej zawartości tego pierwiastka. Próbki szalwii z uprawy hydroponicznej oraz próbki szalwii z uprawy konwencjonalnej poddawano procesowi suszenia sublimacyjnego z użyciem liofilizatora Beta 2-8 LSCplus.

Proces liofilizacji, polegający na usunięciu wody z zamrożonego wcześniej materiału na drodze sublimacji, prowadzono w warunkach obniżonego ciśnienia (0,09 mbar) i obniżonej temperatury (-80 °C). Procedurę rozpoczynano od wstępnego, głębokiego zamrożenia materiału pod ciśnieniem atmosferycznym, następnie prowadzono próżniową sublimację lodu oraz dosuszanie materiału do żądanej wilgotności (poniżej 10 %). Końcowy etap procesu to tzw. suszenie desorpcyjne polegające na ogrzaniu produktu w celu usunięcia wody związanej chemicznie, która nie uległa zamrożeniu. Otrzymany produkt, tzw. liofilizat charakteryzował się optymalną jakością, bowiem w warunkach technologicznych procesu zminimalizowane było ryzyko utraty właściwości materiału czy rozkładu substancji aktywnych. Dodatkowo produkt zachował swój kształt, zapach i barwę (fot. 1). Konwencjonalna metoda suszenia polega natomiast na zastosowaniu wysokich temperatur – 70 ÷ 105 °C, co wiąże się często z obniżeniem jakości produktu i zmianą jego wyglądu, pozbawieniem składników lotnych i wrażliwych na działanie wysokich temperatur.

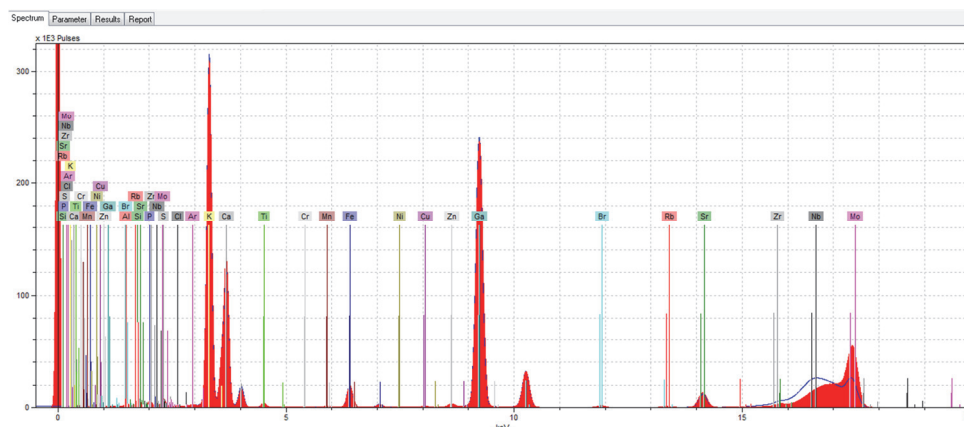


Fot. 1. Wygląd materiału roślinnego po suszeniu konwencjonalnym i po liofilizacji
Photo 1. Appearance of plant material after conventional drying and lyophilisation

Liofilizowane i wysuszone konwencjonalnie zioła poddawano procesowi mineralizacji w układzie zamkniętym w mineralizatorze mikrofalowym Ertec MW Magnum II (Ertec-Poland) oraz przy użyciu kwasu azotowego(V) o stężeniu 65 %, (Emsure ISO, Merck, Polska) i niewielkiej ilości roztworu 30-procentowej wody utlenionej (cz.d.a., Chempur, Polska). Zastosowanie wysokiej temperatury reakcji roztwarzania, podwyższonego ciśnienia oraz dodatek czynnika stabilizującego pozwolił na uzyskanie jednorodnej i stabilnej zawiesiny.

Do każdej z trzech przygotowanych próbek typu eppendorf pobierano 0,5 ml otrzymanej zawiesiny i dodawano 60 μ l roztworu wzorca wewnętrznego galu (1000 μ g/ml, Plasma HIQU, Merck, Polska). Następnie mieszaninę poddawano trzykrotnej 30-sekundowej homogenizacji przy użyciu wstrząsarki laboratoryjnej punktowej typu vortex, model PV-1 (Grant-Bio, Wielka Brytania). Przygotowaną w ten sposób próbkę w postaci cienkiej warstwy nanoszono na nośnik – dysk szafirowy o średnicy 20 mm, który umieszczano w automatycznym podajniku próbek, a następnie w aparaturze analitycznej – spektrometrze fluorescencji rentgenowskiej całkowitego odbicia (TXRF), model PICOFOX S2 (Bruker Inc., USA). Główną zaletą tego spektrometru jest jednoczesna analiza wielopierwiastkowa z zachowaniem niskiej granicy wykrywalności. Aparat ten pozwala na analizę próbek ciekłych, zawiesin i ciał stałych oraz próbek zanieczyszczeń.

Zasada pomiaru polega na generowaniu przez lampę molibdenową wiązki promieniowania z zakresu $10^{-3} \div 10^0$ nm, kierowaniu jej na próbkę pod niewielkim kątem, a następnie rejestracji emitowanego promieniowania wtórnego, charakterystycznego dla każdego atomu pierwiastka wchodzącego w skład badanej próbki. W wyniku analizy otrzymuje się widmo promieniowania rentgenowskiego (rys. 1), na podstawie którego dokonuje się oznaczenia zawartości danych pierwiastków w próbce.



Rys. 1. Przykładowe widmo promieniowania rentgenowskiego próbki badanych ziół
Fig 1. Example of X-ray spectrum of sample of analysed herbs

Wyniki i ich omówienie

Uzyskane wyniki zawartości krzemu w próbkach materiału roślinnego (wybranych ziół) przedstawiono w tab. 1.

Tabela 1. Zawartość krzemu w badanych ziołach

Table 1. Content of silicon in analysed herbs

Próba / Sample	Zawartość krzemu Content of silicon [g/kg]	SD
Szałwia lekarska (<i>Salvia officinalis</i>) z uprawy hydroponicznej, liofilizowana / Common sage (<i>Salvia officinalis</i>) from hydroponic cultivation, lyophilised	< LOD	-
Szałwia lekarska (<i>Salvia officinalis</i>) z uprawy hydroponicznej, suszona konwencjonalnie / Common sage (<i>Salvia officinalis</i>) from hydroponic cultivation, conventionally dried	< LOD	-
Szałwia lekarska (<i>Salvia officinalis</i>) z uprawy w glebie, liofilizowana / Common sage (<i>Salvia officinalis</i>) grown in soil, lyophilised	1,973	0,2845
Pokrzywa zwyczajna (<i>Urtica dioica</i>) suszona konwencjonalnie / Stinging nettle (<i>Urtica dioica</i>) conventionally dried	5,250	0,7175
Skrzyp polny (<i>Equisetum arvense</i>) suszony konwencjonalnie / Field horsetail (<i>Equisetum arvense</i>) conventionally dried	13,990	0,4340

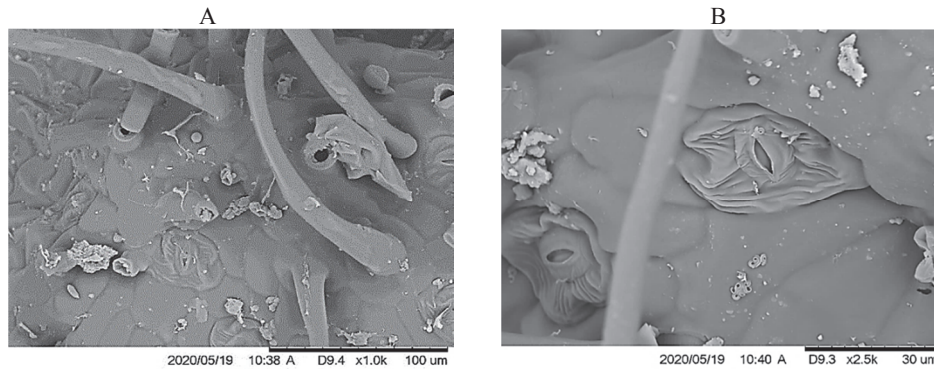
Objaśnienia / Explanatory notes:

LOD – limit detekcji urządzenia / limit of detection of device; SD – odchylenie standardowe / standard deviation; LOQ – limit oznaczalności (135,0 mg/kg) / limit of quantification (135.0 mg/kg).

Zawartość krzemu w próbkach szalwii pochodzącej z uprawy hydroponicznej wynosiła poniżej 46,56 mg/kg (poniżej limitu detekcji urządzenia), natomiast w próbkach szalwii uprawianej w warunkach konwencjonalnych osiągnęła ok. 1,9 g/kg. W próbkach pokrzywy zawartość krzemu wynosiła ponad 5,2 g/kg, a w próbkach skrzypu polnego – ok. 14,0 g/kg.

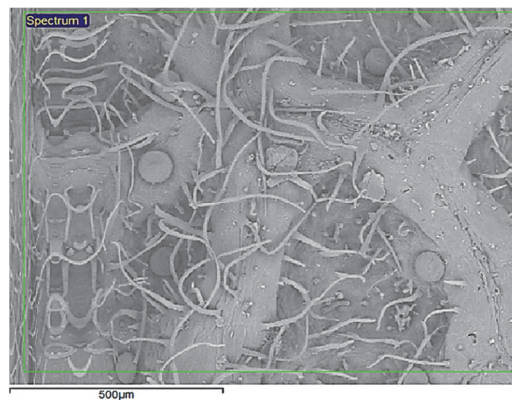
W celu potwierdzenia i uzupełnienia otrzymanych wyników próbki szalwii, pokrzywy i skrzypu polnego poddano analizie mikroskopowej przy użyciu skaningowego mikroskopu elektronowego (SEM, ang. *scanning electron microscope*), model TM3000 (Hitachi, Japonia), umożliwiającego określenie składu pierwiastkowego w badanych mikroobszarze dzięki spektrometrowi dyspersji energii wtórnego promieniowania rentgenowskiego (EDS, ang. *energy dispersive X-Ray spectroscopy*). Wyniki obserwacji mikroskopowych przedstawiono na fot. 2 - 9.

Wyniki analizy pierwiastkowej szalwii lekarskiej (fot. 2) z powierzchni zaznaczonej na fot. 3. przedstawiono w tab. 2.



Fot. 2. Obraz mikroskopowy próbki liofilizowanej szalwii lekarskiej (*Salvia officinalis*) uprawianej w warunkach konwencjonalnych, w powiększeniu: (A) – 1000-krotnym, (B) – 2500-krotnym

Photo 2. Microscopic image of lyophilised common sage (*Salvia officinalis*) sample grown under conventional conditions, with magnification: (A) – 1000×, (B) – 2500×



Fot. 3. Powierzchnia próbki liofilizowanej szalwii lekarskiej (*Salvia officinalis*) uprawianej konwencjonalnie z zaznaczonym mikroobszarem poddanym analizie pierwiastkowej

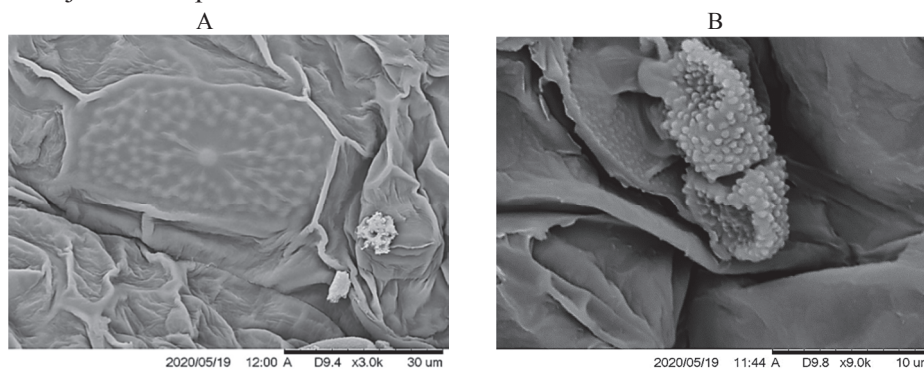
Photo 3. Surface of the lyophilised common sage (*Salvia officinalis*) sample grown under conventional conditions with marked micro-area that underwent elemental analysis

Tabela 2. Wyniki analizy pierwiastkowej w mikroobszarze próbki liofilizowanej szalwii lekarskiej (*Salvia officinalis*) uprawianej konwencjonalnie

Table 2. Results of elemental analysis in micro-area of the lyophilised common sage (*Salvia officinalis*) sample grown under conventional conditions

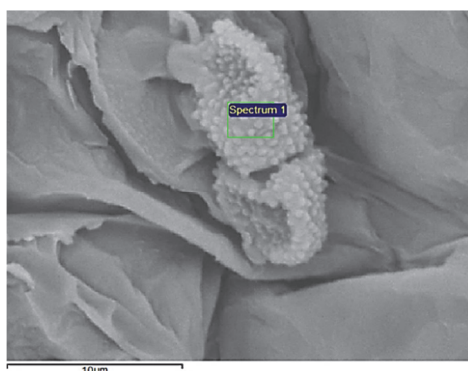
Pierwiastek / Element	Zawartość / Content [g/kg]
Węgiel / Carbon (C)	455,90
Tlen / Oxygen (O)	424,90
Krzem / Silicon (Si)	1,70
Potas / Potassium (K)	117,00

Wyniki analizy pierwiastkowej pokrzywy zwyczajnej (fot. 4) z powierzchni zaznaczonej na fot. 5. przedstawiono w tab. 3.



Fot. 4. Obraz mikroskopowy próbki suszonej pokrzywy zwyczajnej (*Urtica dioica*), w powiększeniu: (A) – 3000-krotnym, (B) – 9000-krotnym

Photo 4. Microscopic image of dried stinging nettle (*Urtica dioica*) sample, with magnification: (A) – 3000 \times , (B) – 9000 \times



Fot. 5. Powierzchnia próbki suszonej pokrzywy zwyczajnej (*Urtica dioica*) z zaznaczonym mikroobszarem poddanym analizie pierwiastkowej

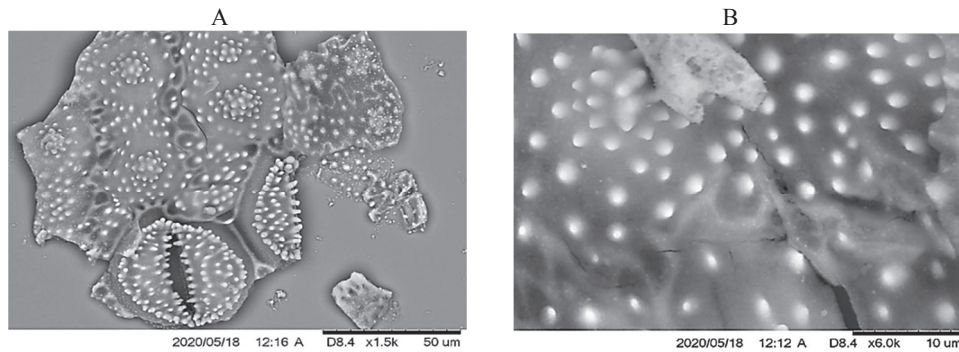
Photo 5. Surface of dried stinging nettle (*Urtica dioica*) sample with marked micro-area that underwent elemental analysis

Tabela 3. Wyniki analizy pierwiastkowej w mikroobszarze próbki suszonej pokrzywy zwyczajnej (*Urtica dioica*)

Table 3. Results of elemental analysis in micro-area of dried stinging nettle (*Urtica dioica*) sample

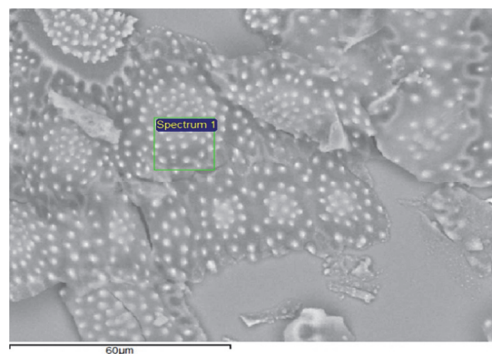
Pierwiastek / Element	Zawartość / Content [g/kg]
Węgiel / Carbon (C)	480,50
Tlen / Oxygen (O)	425,00
Krzem / Silicon (Si)	16,26
Potas / Potassium (K)	46,06
Wapń / Calcium (Ca)	32,25

Wyniki analizy pierwiastkowej skrzypu polnego (fot. 6) z powierzchni zaznaczonej na fot. 7. przedstawiono w tab. 4.



Fot. 6. Obraz mikroskopowy próbki suszonego skrzypu polnego (*Equisetum arvense*), w powiększeniu: (A) – 1500-krotnym, (B) – 6000-krotnym

Photo 6. Microscopic image of dried field horsetail (*Equisetum arvense*) sample, with magnification: (A) – 1500 \times , (B) – 6000 \times



Fot. 7. Powierzchnia próbki suszonego skrzypu polnego (*Equisetum arvense*) z zaznaczonym mikroobszarem poddanym analizie pierwiastkowej

Photo 7. Surface of dried horsetail (*Equisetum arvense*) sample with marked micro-area that underwent elemental analysis

Tabela 4. Wyniki analizy pierwiastkowej w mikroobszarze próbki suszonego skrzypu polnego (*Equisetum arvense*)

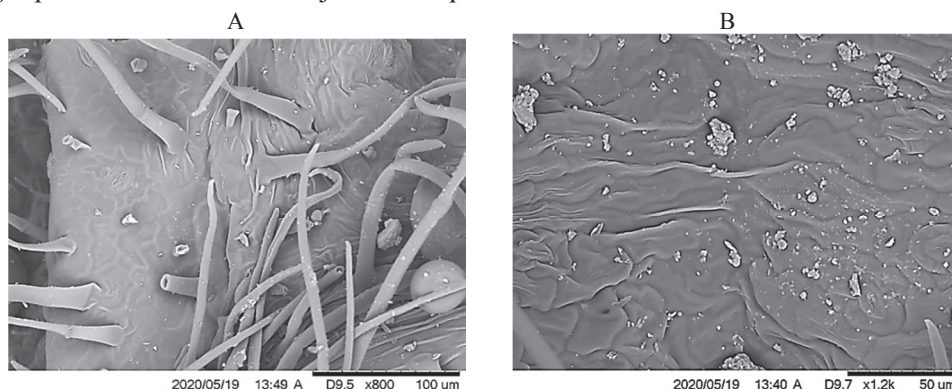
Table 4. Results of elemental analysis in the micro-area of dried field horsetail (*Equisetum arvense*) sample

Pierwiastek / Element	Zawartość / Content [g/kg]
Węgiel / Carbon (C)	174,10
Tlen / Oxygen (O)	546,10
Magnez / Magnesium (Mg)	2,62
Krzem / Silicon (Si)	251,20

c.d. tab. 4

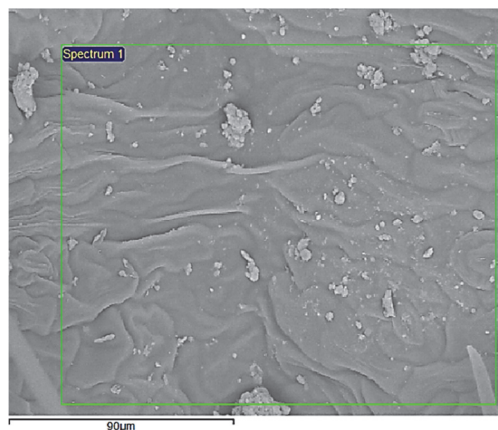
Fosfor / Phosphorus (P)	3,69
Siarka / Sulphur (S)	2,91
Potas / Potassium (K)	11,30
Wapń / Calcium (Ca)	8,14

Wyniki analizy pierwiastkowej szalwii lekarskiej (fot. 8) z uprawy hydroponicznej z powierzchni zaznaczonej na fot. 9. przedstawiono w tab. 5.



Fot. 8. Obraz mikroskopowy próbki suszonej szalwii lekarskiej (*Salvia officinalis*) uprawianej hydroponicznie, w powiększeniu: (A) – 800-krotnym, (B) – 1200-krotnym

Photo 8. Microscopic image of dried common sage (*Salvia officinalis*) sample grown hydroponically, with magnification: (A) – 800×, (B) – 1200×



Fot. 9. Powierzchnia próbki suszonej szalwii lekarskiej (*Salvia officinalis*) z uprawy hydroponicznej z zaznaczonym mikroobszarem poddanym analizie pierwiastkowej

Photo 9. Surface of dried common sage (*Salvia officinalis*) sample grown hydroponically with marked micro-area that underwent elemental analysis

Tabela 5. Wyniki analizy pierwiastkowej w mikroobszarze próbki suszonej szalwii lekarskiej (*Salvia officinalis*) z uprawy hydroponicznej

Table 5. Results of elemental analysis in micro-area of sample of dried common sage (*Salvia officinalis*) from hydroponic cultivation

Pierwiastek / Element	Zawartość / Content [g/kg]
Węgiel / Carbon (C)	501,70
Tlen / Oxygen (O)	399,20
Potas / Potassium (K)	70,81
Wapń / Calcium (Ca)	13,86
Glin / Aluminium (Al)	9,72
Krzem / Silicon (Si)	10,99

Próbki szalwii z uprawy hydroponicznej charakteryzowały się bardzo delikatnym i słabo wyczuwalnym zapachem olejków eterycznych. Liście rośliny o mało intensywnej barwie były kruche, delikatne i cienkie, łodygi natomiast wiotkie i łamliwe. Z kolei intensywnie wybarwione, grube, sztywne i aksamitne liście szalwii uprawianej w sposób konwencjonalny uwalniały intensywny zapach charakterystyczny dla tego gatunku. Łodygi rośliny o większej średnicy przekroju, nawet po wysuszeniu były odporne na rozcieranie i łamanie.

Na podstawie analiz mikroskopowych wykazano obecność krzemu w trzech próbkach badanych ziół: szalwii uprawianej w sposób konwencjonalny, pokrzywy i skrzypu polnego. W próbce szalwii uprawianej hydroponicznie zawartość krzemu znajdowała się poniżej limitu detekcji urządzenia.

Wykonane w dużych powiększeniach fotografie mikroskopowe obrazują budowę morfologiczną badanych roślin. Na fotografii mikroskopowej próbki skrzypu polnego wykonanym w powiększeniu 6000-krotnym (fot. 6) zaobserwowano wyraźnie zarysowane obszary rośliny, w których skumulowały się związki krzemu w postaci jasnych, uwypuklonych punktów (fot. 7). Liść pokrzywy, którego fragment zobrazowano na fotografiach SEM (fot. 4 i 5), w porównaniu z próbkami skrzypu polnego charakteryzował się niewielkimi obszarami kumulacji krzemu, co ma odzwierciedlenie w wynikach analizy składu pierwiastkowego obydwu surowców zielarskich. W próbkach szalwii z uprawy konwencjonalnej (fot. 8) nie zaobserwowano wyraźnych skupisk obszarów zawierających krzem, jednak analiza pierwiastkowa w mikroobszarze potwierdziła jego obecność w roślinie na poziomie $< 0,2\%$.

Wnioski

1. Zastosowanie spektrometrii fluorescencji rentgenowskiej całkowitego odbicia TXRF do analizy pierwiastków w wybranych surowcach zielarskich umożliwiło

- stwierdzenie, że najwięcej krzemu w swoich tkankach kumuluje skrzyp polny, co ma odzwierciedlenie w wynikach analiz mikroskopowych.
2. Szałwia lekarska uprawiana hydroponicznie charakteryzowała się małą zawartością krzemu. Zawartość tego pierwiastka w pokrzywie zwyczajnej wynosiła 5,2 g/kg, a w próbkach szalwii lekarskiej uprawianej konwencjonalnie – 1,9 g/kg.
 3. Przeprowadzone analizy pierwiastkowe w mikroobszarze z wykorzystaniem skaningowego mikroskopu elektronowego potwierdziły wyniki analiz uzyskanych techniką TXRF.

Literatura

- [1] Borkowski J., Felczyńska A., Górecki R.: Wpływ nawożenia krzemem na wzrost, plon i zdrowotność pomidorów. Zesz. Nauk. Instytutu Ogrodnictwa, 2014, 22, 195-202.
- [2] Brogowski Z.: Krzem w glebie i jego rola w żywieniu roślin. Post. Nauk Rol., 2000, 6, 9-16.
- [3] Datnoff L.E., Snyder G.H., Korndörfer G.H.: Silicon in Agriculture. Elsevier Science B.V., Amsterdam 2001.
- [4] Górecki R.S., Danielski-Busch W.: Effect of silicate fertilizers on yielding of greenhouse cucumber (*Cucumis sativus* L.) in container cultivation. J. Elementol., 2009, 14 (1), 71-78.
- [5] Khuder A., Sawan M.K., Karjou J., Razouk A.K.: Determination of trace elements in Syrian medicinal plants and their infusions by energy dispersive X-ray fluorescence and total reflection X-ray fluorescence spectrometry. Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy, 2009, 64, 721-725.
- [6] Sanchez-Moreno R.A., Gismera M.J., Sevilla M.T., Procopio J.R.: Direct and rapid determination of ultratrace heavy metals in solid plant materials by ET-AAS ultrasonic-assisted slurry sampling. Phytochemical Analysis, 2010, 21 (4), 340-347.
- [7] Soy lak M., Tuzen M., Narin I., Sari H.: Comparison of microwave, dry and wet digestion procedures for the determination of trace metal contents in spice samples produced in Turkey. J. Food Drug Anal., 2004, 12 (3), 254-258.
- [8] Stamatakis A., Papadantonakis N., Savvas D., Lydakakis-Simantiris N., Kefalas P.: Effects of silicon and salinity on fruit yield and quality of tomato grown hydroponically. Acta Horticulturae, 2003, 609, 141-147.
- [9] Starck Z.: Rola składników mineralnych w roślinie. W: Fizjologia roślin. Red. J. Kopcewicz, S. Lewak. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 2002, ss. 228-246.

APPLICATION OF TOTAL REFLECTION X-RAY FLUORESCENCE SPECTROMETRY (TXRF) IN DETERMINING CONTENT OF SILICON IN PLANT MATERIAL

Summary

Numerous scientific studies, in which beneficial effects are shown of silicon on plants, are proof of the growing interest in the role of silicon in terms of its influence on the growth and proper development of plants. Also they highlight the need to supply the substratum with this element during plant production.

The objective of the research study was to tweak the method for preparing samples of plant material and to determine the content of silicon therein with the use of total reflection X-ray fluorescence spectrometry. The samples of plant material, which included lyophilized and dried leaves of common sage

(*Salvia officinalis*), dried leaves of field horsetail (*Equisetum arvense*) and dried leaves of stinging nettle (*Urtica dioica*), underwent an elemental analysis. The samples of dried plants were digested with a mixture of concentrated nitric acid(V) and hydrogen peroxide in a microwave mineraliser. The analysis of the silicon content in the samples was performed using a total reflection X-ray fluorescence spectrometer (TXRF). The silicon content in the common sage samples was 0.2 %, in the stinging nettle samples – more than 0.5 % and in the field horsetail samples – ca. 1.4 %. In order to confirm and complete the information obtained, the collected plant material underwent a microscopic analysis using a scanning electron microscope, which made it possible to determine the elemental composition in the micro-area by means of a secondary X-ray energy dispersion spectrometer. Microscopic photos were taken and an analysis was performed of the elemental composition of samples of the plant material in the micro-area; the analyses performed demonstrated that silicon was present in three samples of the plant material analysed: in conventionally grown sage, in nettle and field horsetail.

Key words: common sage, field horsetail, stinging nettle, silicon, lyophilisation, TXRF, SEM 