ROCZNIKI GLEBOZNAWCZE T. XXXV, NR 3—4, S. 3—20, WARSZAWA 1984

RYSZARD TURSKI, BOŻENA CHMIELEWSKA

KWASY HUMINOWE GLEB WYTWORZONYCH Z TORFÓW NISKICH

Katedra Gleboznawstwa, Chemii Rolnej i Mikrobiologii
Akademii Rolniczej w Lublinie

Pomimo licznych badań związków próchnicznych gleb mineralnych niezbyt wiele materiałów charakteryzuje próchnicę gleb wytworzonych z torfów [3, 6, 8, 25]. Dysproporcje te pogłębiają się w stosunku do badań kwasów huminowych, których budowa i skład dalekie są od pełnego poznania. Można oczekiwać, że wraz z obserwowanym postępem w metodyce badań będzie możliwe coraz dokładniejsze poznanie różnic występujących w jednostkach strukturalnych połączeń próchnicznych oraz przeprowadzenie ich klasyfikacji w zależności od genezy i ewolucji gleb, z których zostały wydzielone [10, 11, 16, 17, 18, 20, 21, 22]. Próby podziału tych połączeń były już dokonywane [9, 18]. Za ich podstawę przyjęto na przykład różnice w intensywności pasm absorpcyjnych, zwłaszcza występujące w obrębie liczb falowych 1700—1500 cm^{-1} oraz pasm absorpcyjnych 1540 cm^{-1} i 1050 cm^{-1}, które dominowały w pewnych preparatach, lecz nie pojawiały się w innych. Słuszność podziału kwasów huminowych, wydzielonych z niektórych gleb, na typy A, B, P i R_p została potwierdzona stosunkowo niedawno wynikami badań dotyczącymi określenia stopnia ich humifikacji oraz oznaczeniami składu elementarnego, zawartości poszczególnych form azotu, grup zawierających tlen i innych składników [11, 18, 20, 21].

Niniejsza praca jest próbą ustalenia miejsca kwasów huminowych gleb wytworzonych z torfów torfowisk niskich w zarysowujących się podziałach typologicznych związków próchnicznych.

CHARAKTERYSTYKA MATERIAŁU I METODYKA BADAŃ

Do badań wzięto sześć próbek gleb wytworzonych z torfów torfowisk niskich Pojezierza Łęczyńsko-Włodawskiego stanowiącego część regionu Polesia Zachodniego (tab. 1). Torfowiska te z wyjątkiem torfu węglanowego, oznaczonego numerem II, są użytkowane jako łąki, co

Tabela 1

Charakterystyka badanych torfowisk i torfów
Characteristics of peatlands and peats under study

Typ - Type	Charakterystyka złoża torfu / Characteristics of peat deposit				pH_{BaCl_2}	Zawartość ogólna w % s.m. / Total content in % d.m.			
	typ - type rodzaj torfu peat kind	stopień rozkładu decomposition degree, %	materia organiczna organic matter, %	popielność ash content %		Ca	Mg	Al	Fe
I niskie - pojezierne low lakeland	niski - low szuwarowo/turzycowy reed/sedge	20	85,9	17,0	4,9	2,42	0,035	0,20	0,90
II niskie - pojezierne low lakeland	niski - low szuwarowo/turzycowy reed/sedge	35	82,1	10,4	6,4	4,70	0,090	0,31	0,47
III niskie - dolinowo-pojezierne low valley-lakeland	niski - low turzycowy - reed	27	88,0	18,0	6,0	3,70	0,120	n.o.	0,96
IV niskie - dolinowo-pojezierne low valley-lakeland	niski - low mchowo/turzycowy moss/sedge	35	82,4	-	4,1	2,10	0,185	n.o.	1,04
V niskie - dolinowe low valley	niski - low szuwarowo/turzycowy reed/sedge	40	57,4	24,8	4,2	1,53	0,013	0,36	1,80
VI niskie - dolinowe low valley	niski - low olesowo/turzycowy alder/sedge	25	82,6	11,4	4,5	2,68	0,013	0,36	1,80

n.o. = not determined

spowodowało pojawienie się wyraźnych oznak procesu murszenia. Do porównań użyto także preparatu kwasu huminowego, pochodzącego z węgla brunatnego, firmy Merck.

Preparację oraz sposób oczyszczania kwasów huminowych z badanych gleb podano we wcześniejszej publikacji [1]. Preparaty kwasów huminowych poddano: frakcjonowaniu na żelu Sephaudex G-75 drobny. W rozdziałach tych posłużono się roztworami 0,5 i 1% w 1,0 N NaOH, o pH korygowanym do 7. Nanoszono je w ilości 2 cm^3 na kolumny wypełnione żelem, o średnicy 2,6 cm i długości 40 cm. Rozdziału wyciągów na frakcje dokonano w automatycznym kolektorze frakcji Ultrac LKB-7000, stosując do przemycia kolumn wodę dejonizowaną przy szybkości wypływu 25 cm^3/h.

W celu ustalenia przeciętnych ciężarów cząsteczkowych wyznaczono wolną objętość kolumny *Vo* — roztworem dekstryny zabarwionej na niebiesko (Blue Dextran) o ciężarze cząsteczkowym 2 000 000, a jej standaryzację przeprowadzono stosując roztwory związków: albuminę z krwi wołu, której ciężar cząsteczkowy wynosił 45 000, trypsynę o ciężarze cząsteczkowym 24 000 oraz rybonukleazę o ciężarze cząsteczkowym 13 500. Krzywą wzorcową dla żelu G-75 wyznaczono w układzie *Ve/Vo* w stosunku do log ciężarów cząsteczkowych użytych preparatów, gdzie *Ve* — znaczy objętość wymytych związków. Zawartość związków o przybliżonym ciężarze cząsteczkowym we frakcjach uzyskanych po rozdziale kwasów huminowych podano w procentach w stosunku do wyjściowych ich ilości. Naważkę 0,65 g kwasu huminowego i 20 cm^3 6 N HCl umieszczano w ampułkach 15 cm^3, które po wyparciu powietrza N_2 zatopiono oraz hydrolizowano w temperaturze 110°C przez 16 godzin. Następnie po otworzeniu ampułek zawartość sączono przez lejek z filtrem G-5, a po przemyciu wodą dejonizowaną przesącz przeniesiono do kolb miarowych 50 cm^3. W przesączu oznaczono zawartość N-hydrolizującego metodą mikro-Kjeldahla.

Po odparowaniu 4 cm^3 hydrolizatu pod próżnią w 35°C, przy dodatku norleucyny jako wzorca wewnętrznego, pozostałość dwukrotnie przemyto wodą dejonizowaną i ponownie odparowano. Suchą pozostałość rozpuszczono w 10 cm^3 buforu cytrynowego o pH 2,2 ∓ 0,02. Z tego wyciągu wykonano ilościowy rozdział aminokwasów w automatycznym kolektorze aminokwasowym AAA-881. Kwasy huminowe przeanalizowano na:

— zawartość grup COOH i całkowitej kwasowości metodami opracowanymi przez Schnitzera i Guptę [14],

— zawartość grup C=O chinonów z zastosowaniem $SnCl_2$ [15].

Wyznaczono poza tym:

— ciężar równoważnikowy — potencjometrycznie w 1 N KCl,

— gęstość optyczną i współczynniki barwy Q 4/6 — zgodnie z zaleceniami Roszyka [13].

Sprektralną analizę kwasów huminowych w podczerwieni oraz niektórych preparatów po ich kwaśnej hydrolizie wykonano techniką krążkową z KBr na fotometrze UR 10.

Skład elementarny oznaczono zarówno w kwasach huminowych jak i fulwowych, wydzielonych jako frakcja D metodą Forsytha [5]. Badane kwasy huminowe (KH) i fulwowe (KF) oznakowano numerami zgodnie z numeracją próbek badanych gleb (od KH_I i KF_I do KH_{VI} i KF_{VI}). Preparat porównawczy kwasów huminowych z węgla brunatnego oznaczono jako KH_M.

WYNIKI BADAŃ

Ze wstępnego podziału kwasów huminowych gleb wytworzonych z torfów torfowisk niskich na żelu Sephadex G—75 wynika, że są one mieszaniną połączeń, w której dominują frakcje o przybliżonych ciężа-

Tabela 2

Procentowy udział połączeń zawartych w ważniejszych kolejnych frakcjach kwasów huminowych /KH/ gleb torfowych, wydzielonych na żelu Sephadex G-75

Percentage of compounds contained in some important subsequent fractions of humic acids /KH/ of peat soils separated on the Sephadex G-75 gel

Przeciętne ciężary cząsteczkowe Average molecular weights \ Kwasy huminowe Humic acids	KH_I	KH_{II}	KH_{IV}	KH_V	KH_{VI} x	KH_M
50000	20,0	26,1	35,0	19,7	17,0	29,0
13500-16000	18,9	27,8	21,7	24,4	12,0	-
10000	13,1	13,6	18,5	20,2	17,1	32,7

x Część kwasów huminowych uległa na żelu nieodwracalnej adsorpcji
A part of humic acids underwent irreversible adsorption on the gel

Tabela 3

Zawartość grup funkcyjnych COOH i OH, całkowita kwasowość oraz ugrupowań chinonowych C=O w badanych kwasach huminowych /mo/g/

Content of functional groups of COOH and OH, total acidity and quinone C=O groups in the humic acids investigated /me/g/

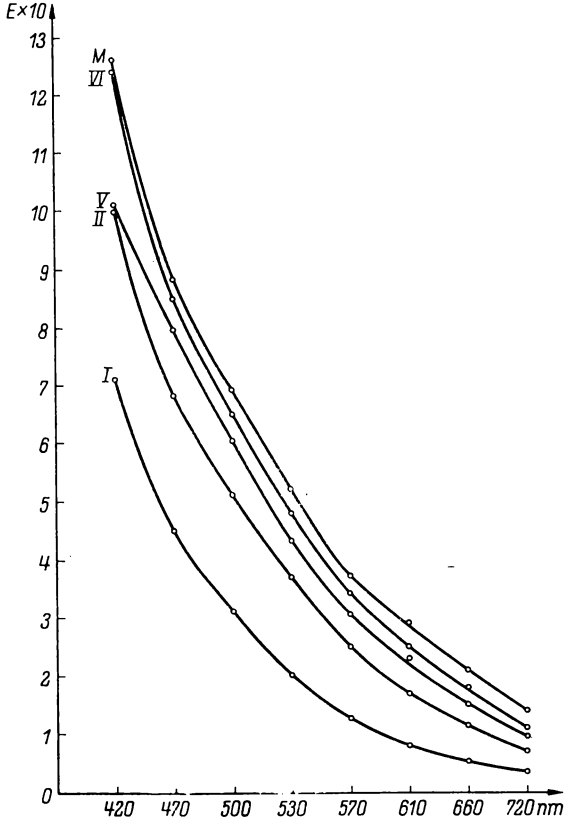
Kwasy huminowe Humic acids	COOH	OH fenoli i alkoholi OH of phenols and alcohols	Całkowita kwasowość Total acidity	C=O chinonów C=O of quinones
KH_I	1,99	4,66	6,65	0,375
KH_{II}	2,19	5,19	7,38	1,400
KH_V	2,88	5,50	8,38	0,950
KH_{VI}	3,68	5,23	8,91	1,225
KH_M	1,74	11,20	12,94	n.o.

n.o. = not determined

rach cząsteczkowych >50 000, mieszczących się w zakresie 13 500—16 000 i <10 000 (tab. 2). W porównaniu z kwasem huminowym, wyodrębnionym z węgla brunatnego (KH_M) i dzielącym się tylko na dwie wyraźne frakcje wydzielone z gleb fosforowych, kwasy huminowe zawierają mniej cząsteczek o ciężarach cząsteczkowych <10 000.

Gęstości optyczne mierzone w zakresie światła widzialnego dają następujący szereg:

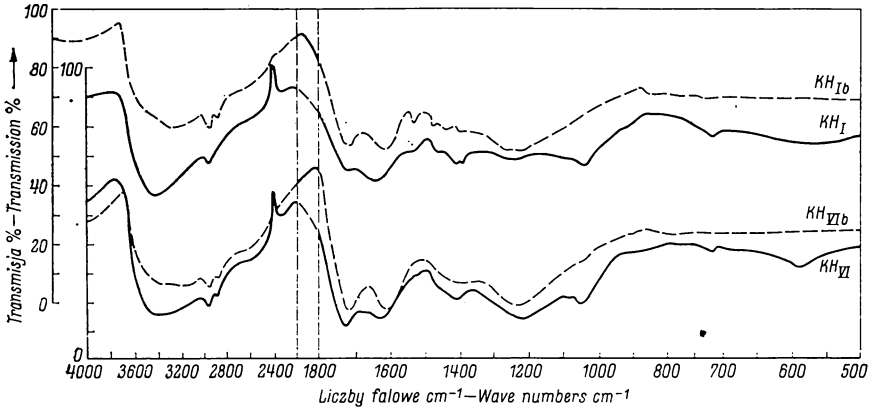
$$KH_I < KH_{II} \simeq KH_{III} \simeq KH_{IV} < KH_V < KH_{VI} < KH_M \text{ (ryc. 1).}$$



Ryc. 1. Gęstość optyczna kwasów huminowych w świetle widzialnym
I—M — numery kwasów huminowych

Optical density of humic acids in a visible light
I—M — Nos of humic acids

Wynik ten sugeruje wzrost aromatycznych ugrupowań C=O i C=C, wchodzących w skład struktur i wpływających na zabarwienie kwasów huminowych. Oznaczona zawartość C=O chinonów jest niska i wydają się one nie stanowić istotnej części składowej badanych związków (tab. 3). Zaobserwowane różnice w przebiegu krzywych gęstości optycznych



Ryc. 2. Spektra w podczerwieni kwasów huminowych KH_I, KH_{VI} oraz produktów ich kwaśnej hydrolizy KH_{Ib}, KH_{VIb}
Spectra in IR of humic acids KH_I, KH_{VI} and of products of their acid hydrolysis: KH_{Ib}, KH_{VIb}

mogą zatem zależeć głównie od liczby wiązań C=C w pierścieniach. W przypadku KH_{VI} i KH_M wysokie gęstości optyczne zostały potwierdzone pojawieniem się pasm absorpcyjnych w podczerwieni zarówno przy 1650—1600 cm^{-1}, jak i przy 610—640 cm^{-1}, interpretowanych jako drgania zginające C=H w jednopierścieniowych układach aromatycznych lub przy 800—850 cm^{-1} — jako drgania zginające C—H w związkach aromatycznych wielopierścieniowych (ryc. 2 i 4). Na więź genetyczną badanych kwasów huminowych wskazują wyraźnie wyliczone wartości współczynników barwy Q 4/6 (z wyjątkiem KH_I) oraz wyznaczone przeciętne ciężary równoważnikowe z wyłączeniem KH_{III} (tab. 4).

Analiza elementarna wskazuje również, że wydzielone z torfów niskich kwasy huminowe cechuje zbliżony stopień utleniania. Stosunek atomów O/C waha się w mniejszym zakresie niż H/C. Dla tych ostatnich najwyższą wartość uzyskano dla KH_I wydzielonego u torfu szuwarowo-trzcinowego, najniższą dla KH_{VI} z dolinowego torfu olchowo-turzycowego. Stwierdzona w drobinach kwasów huminowych zawartość tlenu jest znacznie niższa od jego zawartości w kwasach fulwowych (tab. 5).

Wyniki analizy elementarnej sugerują, że niektóre kwasy huminowe mogły powstać z kwasów fulwowych w wyniku utraty tlenu i wzbogacenia w azot. Postępujący proces murszenia torfu prawdopodobnie sprzyja tworzeniu się w dalszej kolejności kwasów huminowych, które składem pierwiastkowym i stosunkami atomów M/C i O/C są bliskie analogicznym związkom wyodrębnionym z węgla brunatnego. Świadczą o tym niewielkie różnice między wspomnianymi wartościami podanymi dla KH_{II} i KH_{III} a KH_M.

Tabela 4

Skład elementarny oraz niektóre właściwości fizykochemiczne kwasów huminowych /KH/ gleb torfowych i węgla brunatnego f-my Merck'a

Elementary composition and some physico-chemical properties of humic acids /KH/ of peat soils and brown coal of the Merck's firm

	KH_I	KH_{II}	KH_{III}	KH_{IV}	KH_V	KH_{VI}	KH_M
% C	49,83	50,26	53,55	51,20	50,99	50,41	52,82
% H	5,23	5,16	5,42	5,00	4,70	4,36	5,40
% N	3,77	3,73	2,40	3,50	4,22	3,11	2,24
% O	41,77	40,75	38,63	40,30	40,09	42,12	39,54
% popiołu % of ash	1,08	bezp.	0,64	bezp.	3,86	2,94	bezp.
H:C x 100	125,90	123,20	121,50	117,20	110,60	103,80	122,70
N:C x 100	6,48	6,36	3,84	5,86	7,06	5,28	3,63
O:C x 100	62,90	60,91	54,10	58,03	58,90	62,60	56,10
Skład chemiczny monomerów Chemical composition of monomers	$C_{15}H_{19}NO_{10}$	$C_{16}H_{19}NO_{10}$	$C_{26}H_{32}NO_{14}$	$C_{17}H_{20}NO_{10}$	$C_{14}H_{17}NO_8$	$C_{19}H_{20}NO_{12}$	$C_{28}H_{34}NO_{15}$
Przeciętny ciężar równoważn. Average equivalent weight	355	395	590	434	390	395	678
$Q_{4/6}$	8,14	5,93	5,40	5,21	5,13	4,14	4,7

Tabela 5

Skład elementarny kwasów fulwowych /KF/ niektórych gleb torfowych

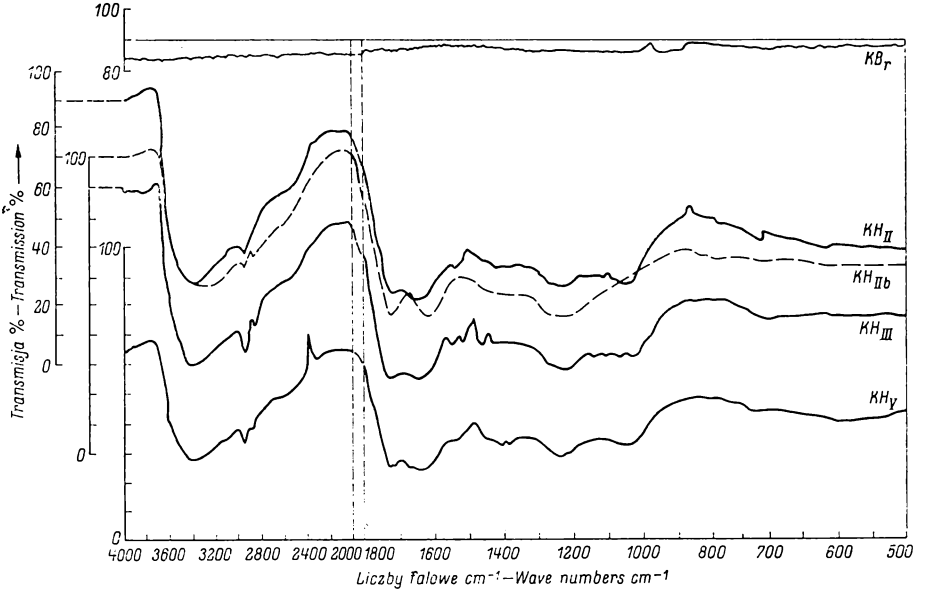
Elementary composition of fulvic acids /KF/ of some peat soils

	KF_I	KF_{II}	KF_V	KF_{VI}
% C	43,61	41,85	40,52	43,83
% H	4,26	4,39	4,45	3,74
% N	2,89	2,08	1,76	1,79
% O	49,24	51,68	53,27	50,64
H:C x 100	117,2	125,9	131,8	102,4
N:C x 100	5,68	4,26	3,72	3,50
O:C x 100	84,7	92,6	98,6	86,7
Skład chemiczny monomerów Chemical composition of monomers	$C_{18}H_{21}NO_{15}$	$C_{23}H_{30}NO_{22}$	$C_{27}H_{35}NO_{26}$	$C_{29}H_{29}NO_{25}$

Różnicowanie się struktur kwasów huminowych gleb torfowych w odniesieniu do KH_M zależy od stopnia nasilenia procesu demetylacji, obejmującego układy ligninopodobne w ich molekułach. W wyniku znacznego zaawansowania tego procesu w kwasie huminowym KH_M, po-

chodzącym z węgla brunatnego, nastąpił wysoki wzrost zawartości grup OH—, głównie fenolowych, czego dowodem jest bardzo duża całkowita kwasowość tego preparatu w porównaniu do kwasowości KH gleb torfowych (tab. 3). Kwasowość tych ostatnich, podobnie jak KH_M, jest jednak związana bardziej ze stężeniem jonów wodorowych oddysocjowanych z grup hydroksylowych niż karboksylowych. Należy zaznaczyć, że przy stosunkowo wyrównanej zawartości grup OH (4,66—5,5 me/g) i mimo daleko niższej (niekiedy dwukrotnie) zawartości grup COOH różnice w całkowitej kwasowości KH torfów niskich są znaczne i wynoszą od 6,65 do 8,91 me/g.

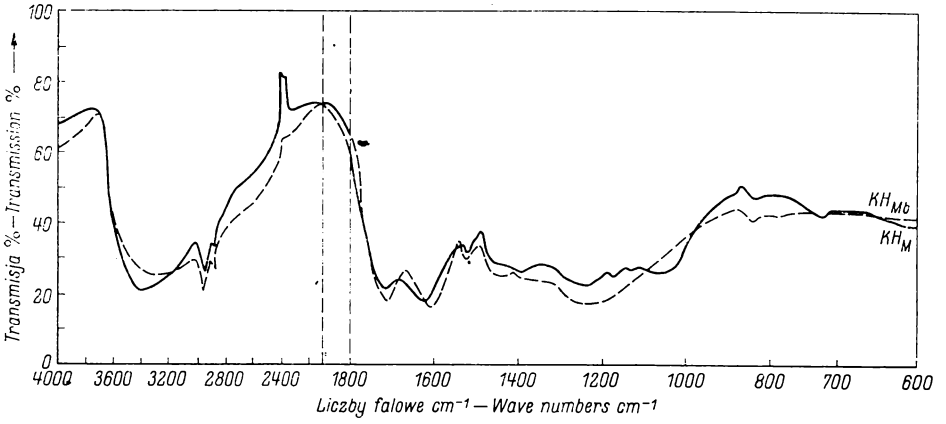
Obecność grup funkcyjnych zawierających tlen została potwierdzona wielu pasmami absorpcyjnymi w sprektrach kwasów huminowych w podczerwieni (ryc. 2, 3, 4). Najintensywniejsze pasmo absorpcyjne



Ryc. 3. Spektra w podczerwieni kwasów huminowych KH_{II}, KH_{III} i KH_V oraz produkty kwaśnej hydrolizy KH_{IIb}

Spectra in IR of humic acids KH_{II}, KH_{III} and KH_{IV} and of product of their acid hydrolysis: KH_{IIb}

przypisane drganiom rozciągającym C=O grup karboksylowych w nasyconych alifatycznych kwasach wystąpiło przy liczbie falowej 1720 cm^{-1}. Zgodnie z danymi ilościowymi tych grup (tab. 3) uzyskano w tym rejonie najsłabsze ugięcie w spektrogramie KH_I, najsilniejsze w KH_{VI}. W tym ostatnim kwasie huminowym pasmo 1720 cm^{-1} jest wyraźnie proporcjonalne do mocno zaznaczonego, szerokiego ugięcia



Ryc. 4. Spectrum w podczerwieni KH_M i produktu jego kwaśnej hydrolizy KH_{Mb}
Spectrum in IR of KH_M and of the product of its acid hydrolysis KH_{Mb}

w pobliżu 1200 cm^{-1}, które może, między innymi, być powodem pojawiania się drgań zginających C—O i rozciągających O—H w grupach COOH. W zakresie widma absorpcyjnego 1265—1200 cm^{-1} występują również drgania zginające O—H i drgania rozciągające C—O fenoli. Intensywność tego pasma wyraźnie koreluje ze stwierdzoną w kwasach huminowych zawartością grup hydroksylowych (tab. 3). Nieco mniej precyzyjnie można stwierdzić prawdopodobieństwo występowania w cząsteczkach tych połączeń grup COOH przez pasmo absorpcyjne przy liczbie falowej około 3 300 cm^{-1}, odpowiadające drganiom rozciągającym związanych grup O—H, które mogą wchodzić w skład tak kwasów, jak fenoli i alkoholi.

Podobną absorpcję w rejonie liczby falowej 1 420 cm^{-1} przypisuje się nie tylko drganiom rozciągającym C=O grupy karboksylowej w formie anionu, ale także drganiom rozciągającym O—H i zginającym C—O w grupach OH fenoli. Wibracje tych ugrupowań nakładają się na drgania rozciągające C—H grup metylowych występujących w grupach metoksylowych OCH_3 lignin. W przypadku analizowanych kwasów huminowych KH_{VI} i KH_M występowanie w ich strukturach niezmienionych reszt ligninowych jest możliwe, ponieważ intensywność tego pasma w preparatach zmodyfikowanych kwaśną hydrolizą nie uległa wyraźniejszym zmianom. Działanie stężonego HCl obniżało tylko intensywność tych pasm absorpcyjnych, które wskazywały na włączenie grup COOH w aromatyczne lub alifatyczne układy w kwasach.

Z analizowanych pierwiastków zawartość azotu w kwasach huminowych zmieniała się w granicach od 2,24 do 4,22%. Była ona przeważnie niższa, a niekiedy tylko podobna (KH_{III} i KH_M) jak w kwasach fulwowych. Wynik ten wskazuje, że podczas przemian kwasów huminowych

może następować ponowne odłączenie się azotu. Tego rodzaju zmiany wpłynęły na zawężenie się wartości stosunków atomów N/C. W przeprowadzonych badaniach wartości te wahają się od 0,038 do 0,07.

Azot w kwasach huminowych torfów nizinnych nie jest ich trwałym komponentem. W wyniku kwaśnej hydrolizy 6 N HCl odłączyło się od 71 do 80% ogólnej jego ilości (tab. 6). W azocie hydrolizującym jedną

Tabela 6

Zawartość różnych form azotu w badanych kwasach huminowych w % s.m.

Content of various nitrogen forms in the humic acids investigated in % of d.m.

Kwasy huminowe Humic acids	N ogółem Total N	Hydrolizat 6 N HCl - Hydrolyzate in 6 N HCl			N hydrolizujący Hydrolyzable N / N ogółem Total N x 100	N aminokwasów N of amino acids / N ogółem Total N x 100
		N hydrolizujący hydrolyzable N	N aminokwasów N of amino acids	N niehydrolizujący non-hydrolyzable N		
KH_I	3,77	3,03	1,58	0,74	80,0	41,9
KH_{II}	3,73	2,90	1,49	0,83	77,8	40,0
KH_V	4,22	2,01	1,56	1,21	71,4	37,0
KH_{VI}	3,11	2,26	0,96	0,85	72,7	30,9

z ważniejszych frakcji tworzą aminokwasy (tab. 7). Najwyższą zawartość azotu stwierdzono w następujących aminokwasach: asparaginie, glutaminie, alaninie, glicynie, walinie, prolinie i argizinie, gdzie ilość azotu wahała się od 7,16 do 13,00%. Nieco mniej, bo od 3,55 do 7,27% tego pierwiastka przypadało na izoleucynę, leucynę, treominę i lizynę oraz od śladów do około 3% na fenyloalaminę, metioninę, tyrazynę i histydynę (tab. 7)

Sumarycznie azot aminokwasów w kwasach huminowych stanowi od 31 do 42% jego ogólnej ilości. Udział tej formy azotu w N hydrolizującym jest bardziej zróżnicowany (42,5—77,6%) i wskazuje, że N aminowy pochodził i z innych źródeł niż białka. Należałoby tu wziąć pod uwagę związki łatwo reagujące z $N—NH_2$, tj. wielocukry lub substancje cukropodobne. Ich obecność w kwasach huminowych została stwierdzona pasmem absorpcyjnym w podczerwieni przy liczbie falowej 1050 cm^{-1}.

W zakresie ugrupowań zawierających azot w spektrach kwasów huminowych w podczerwieni można wyróżnić pasma: około 3400 cm^{-1} drgań rozciągających N—H w amidach, rozciągających C=N i zginających N—H w amidach i innych związkach zawierających grupę C=N wchodzącą w skład pasma 1650 cm^{-1} oraz rozciągających N—N w peptydach w rejonie pasma 1540 cm^{-1}. To ostatnie pasmo nie wystąpiło w spektrogramie KH_{VI}.

Tabela 7

Skład aminokwasowy komponenta białkowego kwasów huminowych /KH/ gleb torfowych

Amino acid composition of the protein component of humic acids /KH/ of peat soils

Aminokwasy - Amino acids	KH_I	KH_{II}	KH_V	KH_{VI}	KH I hydrolizat wartość średnia KH Ist hydrolyzate of mean value
Kwaśne - Acid					
Kwas asparaginowy - Asparagin acid	10,90	11,84	13,00	12,30	13,30
Kwas glutaminowy - Glutamic acid	7,25	7,98	8,34	8,30	9,50
Obojętne niepolarne - Neutral - non-polar					
Glicyna - Glycine	12,00	12,54	11,80	12,00	11,20
Alanina - Alanine	9,68	10,56	8,70	10,10	11,30
Walina - Valine	8,04	7,16	7,56	8,12	7,20
Izoleucyna - Isoleucine	4,05	3,74	3,55	4,25	4,40
Leucyna - Leucine	6,13	5,61	5,40	5,84	6,30
Fenyloalanina - Phenyloalanina	3,08	3,22	2,41	2,70	4,50
Prolina - Proline	9,38	9,22	9,03	8,91	7,00
Obojętne polarne - Neutral - polar					
Seryna - Serina	5,98	5,64	5,80	5,80	4,50
Treonina - Threonina	5,98	6,23	7,86	5,60	5,20
Metionina - Methionine	2,64	+	+	+	0,40
Tyrozyna - Tyrosine	0,75	1,25	0,62	1,00	1,30
Zasadowe - Alkaline					
Lizyna - Lysine	5,60	6,16	7,27	7,20	9,40
Histydyna - Histidine	+	+	+	+	+
Arginina - Arginine	8,54	8,85	8,66	7,91	5,40

+ - ślady - traces

W warunkach przeprowadzonej kwaśnej hydrolizy preparatów nastąpiło odłączenie substancji wielocukrowych i aminokwasów od komponenta białkowego, co pociągnęło za sobą wygaszenie wspomnianych powyżej pasm.

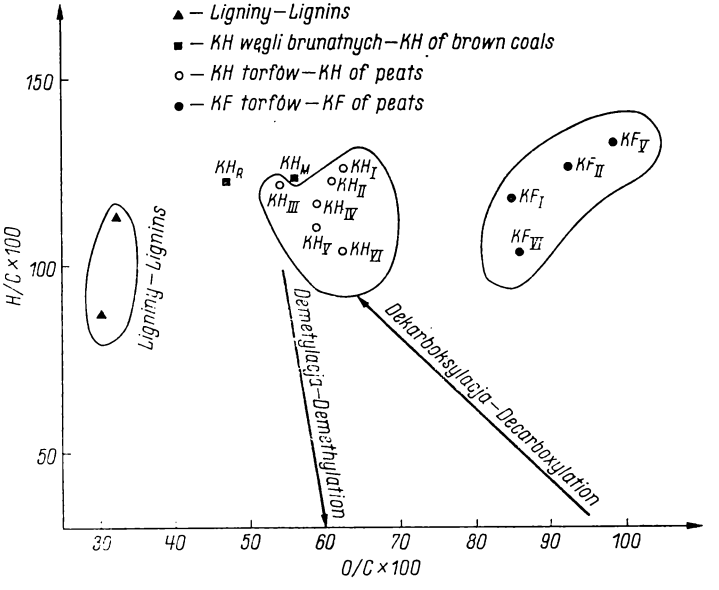
Inną zmianę wywołaną hydrolizą wyjściowych preparatów kwasów huminowych stanowi przesunięcie się pasma absorpcyjnego z obszaru 1650 cm^{-1} do 1600 cm^{-1}. Zakres absorpcji 1650—1600 cm^{-1} przypisuje się drganiom ugrupowań C=O i C=C, występujących w układach aromatycznych tych połączeń. W badanych kwasach huminowych ich intensywność nie wydaje się być wyraźnie różna. W zakresie widma 2860 cm^{-1} uzyskano stosunkowo słabą absorpcję alifatycznych drgań rozciągających C—H, co sugeruje, że grupy CH_2 i CH_3 nie stanowią

także istotnej części analizowanych frakcji kwasów huminowych wyizolowanych z torfów nizinnych.

DYSKUSJA WYNIKÓW

Według współczesnych poglądów synteza związków próchnicznych gleb przebiega dwustopniowo. Najpierw zachodzi rozkład wszystkich składników resztek materii organicznej, a następnie polimeryzacja produktów metabolizmu mikrobiologicznego do związków huminowych.

Posługując się diagramem opracowanym przez K r e v e l e n a [24], kwasy huminowe torfów niskich można uznać za produkty degradacji lignin, które w trakcie humifikacji uległy procesom demetylacji i de-



Ryc. 5. Diagram stosunku atomów H/C do O/C
Diagram of the ratio of H/C : O/C atoms

karboksylacji (ryc. 5). Zaawansowanie tych procesów nie wydaje się być wyraźnie różne dla badanej grupy związków, ze względu na podobny stopień nasycenia wiązań węgla i wodoru oraz stwierdzoną zawartość tlenu.

Podobnie postępujący proces demetylacji lignin nie spowodował wyraźnego różnicowania zawartości ugrupowań OH fenoli i alkoholi w analizowanych kwasach, ale, jak można sądzić z wyników, proces ten nie został jednak zakończony. Wskutek dalszych przemian należy się spodziewać tworzenia analogicznych połączeń, które wydziela się z węgli

brunatnych. Pośrednim tego dowodem są miejsca zajmowane na diagramie przez KH_M zastosowany w naszych badaniach oraz kwasy huminowe wypreparowane z węgla brunatnego przez innych badaczy [12]. Świadczy o tym także wysoka zawartość grup OH fenoli i alkoholi oraz związana z tym wysoka kwasowość KH_M w porównaniu z całkowitą kwasowością tej frakcji związków próchnicznych gleb torfowych.

Z obecnością w kwasach huminowych lignin, kwasów fenolowych i flawonaidów wiąże się nie tylko zawartość grup hydroksylowych, ale i karboksylowych. Przypuszcza się, że w kwasach huminowych torfu tworzą się one w wyniku oksydacji jednego lub dwu pierścieni w molekułach lignin, podnosząc ich kwasowość [4]. Z badanych kwasów huminowych torfów niskich najwyższą zawartością grup COOH odznaczał się KH_{VI}, w którego preparacie uzyskanym po kwaśnej hydrolizie nie stwierdzono wyraźnego wygaszenia pasma absorpcji przy liczbie falowej 1420 cm^{-1}.

Hydroliza kwaśna substancji humusowych gleb powoduje daleko idące ich deformacje, na co też wskazują wcześniejsze badania [3, 7]. Przyczyniła się ona jednak głównie do dekarboksylacji grup COOH, powodując znaczne obniżenie się absorpcji pasm w rejonach liczb falowych, w których wykazuje się w spektrogramach włączenie tych grup do struktur alifatycznych lub jądra aromatycznego omawianych połączeń. Bardzo znamiennym tego przykładem jest spadek w intensywności pasma absorpcyjnego 1720 cm^{-1} uzyskany w preparatach po kwaśnej hydrolizie kwasów huminowych oznaczonych jako: KH_I, KH_{II} i KH_{VI}.

Badane kwasy huminowe reprezentują system genetyczny polimerów, wykazujących ciągłość także innych właściwości fizycznych i chemicznych. Świadczą o tym chociażby zidentyfikowane we wszystkich kwasach substancje białkowe i wielocukrowe. Te jednostki strukturalne zostały wcześniej wyróżnione w toku analizy sprektralnej w podczerwieni, w serii kwasów huminowych i fulwowych pochodzących z różnych źródeł, w tym i z gleby torfowej [18]. Rozszerzenie wspomnianego zakresu badań i analizy chemiczne pozwoliły ustalić, że azot nie jest trwałym składnikiem kwasów huminowych gleb torfowych. Ilość azotu zhydrolizowanego była duża i odpowiadała jego zawartości uwolnionej w wyniku dwu kolejnych hydroliz z wcześniej przeanalizowanych kwasów huminowych torfu niskiego [2] oraz jednorazowej hydrolizy 8 N H_2SO_4 — z kilku słabo zhumifikowanych kwasów huminowych typu Rp (1) i Rp (2), wydzielonych z poziomów genetycznych A_O i F gleb leśnych lub A_1 okresowo zatapianych [20, 21]. Oznaczony w N-hydrolizującym skład aminokwasowy był zbliżony do składu aminokwasowego I hydrolizatu kwasów huminowych z torfu przeanalizowanego przez innych autorów, którzy wykazali, że jest on podobny do składu aminokwasowego białek traw i liści drzew [2].

Niezbyt trwałe wiązanie protein przez kwasy huminowe gleb torfowych uzasadniają także różnice w ogólnej zawartości azotu. W procesie tworzenia się tych połączeń początkowo następuje wzrost, a następnie zmniejszenie jego ogólnej ilości. Wzbogacenie w azot słabo zhumifikowanych związków nie powoduje zmiany barwy ich roztworów. Dopiero po ponownym jego uwolnieniu następuje pogłębienie intensywności zabarwienia [10]. Pogląd ten wydaje się uzasadniać,dlaczego KH_M odznacza się najwyższą gęstością optyczną, a KH_{VI} także najniższą ilością azotu hydrolizującego.

Badania kwasów huminowych w świetle podczerwonym potwierdziły również występowanie w ich cząsteczkach licznych połączeń zawierających azot: N—H i C=N. Przy braku oznaczeń zawartości cukrów metoda ta wskazała na możliwość włączenia takich jednostek do struktur badanych kwasów, czego dowodem jest pasmo absorpcyjne 1050 cm^{-1}, eliminowane po hydrolizie kwaśnej preparatów. W tym zakresie badań warto jest zwrócić uwagę na brak zmian w intensywności pasma absorpcyjnego 1650 cm^{-1}, które uważa się za znamienne dla aromatycznego składnika kwasów huminowych [8, 9, 17, 18, 22].

Przy stwierdzonej stosunkowo niskiej w porównaniu z kwasami huminowymi gleb mineralnych zawartości grup C=O chinonów [15], wynik ten nie budzi większych zastrzeżeń. Jest on zresztą zgodny z analogicznymi danymi, uzyskanymi dla frakcji rozpuszczalnej i nierozpuszczalnej kwasów huminowych gleby torfowej [8]. Pasmo absorpcyjne 1650 cm^{-1}, w wyniku uprzednio wykonanej hydrolizy preparatów: KH_I, KH_{II}, KH_{VI} i KH_M, zmieniło jednak pozycję w ich spektrogramach. Jego przesunięcie w rejon liczby falowej 1600 cm^{-1} nie obejmuje prawdopodobnie wiązań H uczestniczących w podłączeniu substancji białkowych do struktur badanych związków [16].

W świetle przeprowadzonych badań kwasy huminowe z torfów niskich można częściowo zaliczyć do spektralnego typu III, który został wyróżniony [18] w oparciu o wystąpienie w spektrach kwasów huminowych gleb bielicowych z poziomu (*B*) i kwasów fulwowych z torfu stosunkowo intensywnych pasm absorpcyjnych 3400, 1720, 1650 cm^{-1}, mocno zaznaczonego 2900 cm^{-1}, a obok nich pasma peptydów — 1540 cm^{-1} i substancji wielocukrowych — 1050 cm^{-1}.

W przeciwieństwie do wspomnianych kwasów, w spektrogramach badanej frakcji humusowej gleb torfowych występuje dodatkowa mocna i szeroka absorpcja w obszarze 1265—1200 cm^{-1}, tak charakterystyczna dla spektralnego typu I. Absorpcja ta koreluje z występowaniem w tych połączeniach ugrupowań zawierających tlen, głównie OH i C—O fenoli [23], a także w związkach, w których pierwiastek ten jest bezpośrednio powiązany z węglem aromatycznym jąder [22]. Takie pochodzenie pasma wyjaśniałoby, dlaczego w badanych kwasach huminowych zawartość tlenu oraz wartość stosunków atomów O:C są tak znaczne.

Wiele właściwości chemicznych kwasów huminowych gleb torfowych zbliża je także do odpowiadających im połączeń humusowych gleb mineralnych, zaliczonych do typu Rp [9]. Z przeprowadzonych wnikliwych badań nad ich chemicznymi strukturami wynika [11, 19, 20, 21], że typ Rp obejmuje kwasy huminowe o słabym stopniu humifikacji, których geneza łączy się z dość wysoką, niekiedy okresową wilgotnością gleb oraz rozkładem materiałów roślinnych, takich jak ściółki leśne, drewno, słoma ryżowa. Charakteryzuje je, podobnie jak kwasy huminowe torfów, analogiczna wartość stosunku atomów H:C [11], zawartość grup funkcyjnych zawierających tlen i całkowita kwasowość [19] oraz zawartość azotu ogółem i ilość tego pierwiastka odłączona w wyniku kwaśnej hydrolizy [20, 21]. W ich jednostkach strukturalnych wyróżniono białka, cukry i substancje fenolowe. Zasadniczą różnicę między kwasami huminowymi typu Rp a kwasami huminowymi torfów stanowi niższa zawartość tlenu, a przez to i niższy stosunek atomów O:C.

Kwasy huminowe wyizolowane z torfów niskich stanowią zatem w łańcuchu nawęglania związków humusowy gleb odrębną grupę połączeń, którą należy potraktować jako ogniwo pośrednie między kwasami fulwowymi tych gleb a kwasami huminowymi węgla brunatnego.

Na podstawie przeprowadzonych badań kwasów huminowych gleb torfowisk niskich można wyprowadzić następujące uogólnienia.

1. Kwasy huminowe stanowią ogniwo pośrednie między kwasami fulwowymi wyodrębnionymi z tych gleb a kwasami huminowymi z węgla brunatnego.

2. Kwasy huminowe badanych gleb mają wiele cech związków próchnicznych *in statu nascendi*. Wyraża się to w niezbyt trwałym włączeniu do ich struktur komponentów: białkowego (aminokwasy) i wielocukrowego, wysoką wartością stosunków O:C, znacznym udziałem w strukturze molekuł ugrupowań zawierających tlen (OH fenoli i COOH) wpływających na ich całkowitą kwasowość.

3. Badane kwasy wyodrębniają się jako specyficzna grupa związków próchnicznych gleb, różniąca się od spektralnego typu III kwasów huminowych słabą absorpcją pasma 2860 cm^{-1} oraz mocną i średnią — w zakresie 1 fal 1265—1200 cm^{-1}, od Rp zaś — wyższą zawartością tlenu, a przez to mniejszym stosunkiem atomów O:C.

LITERATURA

[1] Chmielewska B.: Stability constants of soluble Cu, Co and Zn komplex combinations with humic acids of low moore. Polish J. Soil Sci. 5, 1969, 2, 107.

[2] Czuchajowski L., Erndt A.: Amino acids composition of proteinaceous component of soil humic acids. Rocz. glebozn. 23, 1971, 79.

[3] Farmer V. C., Morrison R. I.: Chemical and infra-red studies on phragmites peat and its humic acid. Proc. Royal Dublin Soc. 1, 1960, 85.

[4] Farmer V. C., Morrison R. I.: Lignin in sphagnum and phragmites derivad from those plants. Geochim. Cosmochin. Acta 28, 1964, 1537.

[5] Forsyth W. C. G.: Studies of the more soluble complexes of soil organic matter. Biochem. J. 41, 1947, 176.

[6] Gordienko S. A., Gawrysz I. N., Iwanow Ł. I.: Srawnitielnoje issledowanje torfianych gumusowych kisłot mietodom gelfiltracji na Sephadexie. Poczwowied. 1973, 11, 138.

[7] Kosaka J., Honda C., Izeki A.: Deformation of humic acid by acid treatment. Soil Sci. Plant Nutr. 7, 1961, 90.

[8] Kucharenko T. A., Ekatarina Ł. J.: Mietod opriedielenja chronowych grup w gumusowych kisłotach. Poczwowied. 1967, 7, 95.

[9] Kumada K., Aizawa A.: The infra-red spectra of humic acids. Soil a. Pland Food 13, 1958, 152.

[10] Kumada K.: Physico-chemical studies on formation of humic acids. J. Sci. Soc. Manure, 26, 1955, 19.

[11] Kuwatsuka S., Tsutsuki K., Kumada K.: Chemical studies on soil humic acids. I. Elementary composition of humic acids. Soil Sci. Plant. Nutr. 23, 1978, 337.

[12] Reimann B., Bartoszewicz A.: Metody frakcjonowania próchnicy gleb torfowych w zastosowaniu do ekstrakcji węgla brunatnego. Rocz. glebozn., dod. do t. 13, 1963, 193.

[13] Roszyk E.: O niektórych właściwościach optycznych kwasów huminowych z różnych typów gleb. Zesz. nauk. WSR Wrocław 19, 1965, 15.

[14] Schnitzer M., Gupta V. C.: Determination of acidity in soil organic matter. Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 29, 1965, 274.

[15] Schnitzer M., Ruffaldi R.: The determination of quinone groups in humic substances. Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 36, 1972, 772.

[16] Simonart P., Batistic L., Mayauden I.: Isolation of protein from humic acid extracted from soil. Plant a. Soil. 27, 1967, 153.

[17] Skłodowski P.: Badania fizyczne i chemiczne związków próchnicznych i ich połączeń z metalami w glebach bielicowych wytworzonych z różnych stref klimatycznych. Geochemia 14, 1974, 1.

[18] Stevenson F. J., Goh K. M.: Infrared spectra of humic acids and related substances. Geochim. Cosmochim. Acta 35, 1971, 471.

[19] Tsutsuki K., Kuwatsuka S.: Chemical studies of soil humic acids. II. Composition of exygen-containing functional groups of humic acids. Soil Sci. Plant Nutr. 24, 1978, 547.

[20] Tsutsuki K., Kuwatsuka S.: Chemical studies on soil humic acids. III. Nitrogen distribution in humic acids. Soil Sci. Plant Nutr. 24, 1978, 561.

[21] Tsutsuki K., Kuwatsuka S.: Chemical studies on soil humic acids. IV. Amino acid, phenol and sugar composition of humic acids. Soil Sci. Plant Nutr. 25, 1979, 29.

[22] Turski R., Nago Van Phu: The characteristics of humus compounds of soil formed soilid calcarecus rocks in various climatic zons. Polish J Soil Sci. 4, 1971, 193.

[23] Wagner G. H., Stevenson F. J.: Structural arragament of functional groups in soil humic acid as rebealed by infrared analyses. Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 29, 1965, 43.
[24] Van Krevelen D. W.: Graphical-statistical method for the study of structure and reaction process of coal. Fuel 29, 1950, 269.
[25] Ziehmann W.: Spectroscopic investigation of lignin, humic substances and peat. Geochim. Cosmochim. Acta 28, 1964, 1555.

Р. ТУРСКИ, Б. ХМЕЛЕВСКА

ГУМИНОВЫЕ КИСЛОТЫ ПОЧВ ОБРАЗОВАННЫХ ИЗ НИЗИННЫХ ТОРФОВ

Кафедра почвоведения, агрохимии и микробиологии Сельскохозяйственной академии в Люблинне

Резюме

Из почв образованных из низинных торфов экстрагировали гуминовые кислоты. В них, а также в их гидролизатах определяли элементарный состав, содержание функциональных групп и эквивалентные весы. Исследовали оптическую млотность и проводили спектральный анализ к инфракрасном свете. На основании проведенных исследований можно формулировать следующие заключения:

1. Гуминовые кислоты составляют косвенное звено между фульвовыми кислотами выделенными из указанных почв и гуминовыми кислотами бурых углей.

2. Гуминовые кислоты имеют много свойств гумусных соединений *in statu nascendi.* Это проявляется в неслишком сильном включении в их структуру протеинного (аминокислотного) и полисахаридного компонентов, в высоком значении соотношения O: C, значительном участии в структуре молекул содержащих кислородные группы (OH-феноли и COOH) влияющих на их кислотность.

3. Исследуемые кислоты можно выделить в специфическую группу гумусных соединений почв, разнящуюся от спектрального типа III гуминовых кислот, слабой абсорбцией полосы 2860 $см^{-1}$ и сильной или средней в пределе 1 волн 1265–1200 $см^{-1}$, а от Rh — высшим содержанием кислорода, а тем самым более узким соотношением O: C.

R. TURSKI, B. CHMIELEWSKA

HUMIC ACIDS OF SOILS DEVELOPED FROM LOW PEATS

Department of Soil Science, Agricultural Chemistry and Microbiology, Agricultural University of Lublin

Summary

Humic acids were extracted from soils developed from low peats. In these acids and in their hydrolyzates elementary composition, content of functional groups and equivalent weights were determined. Optical density was investigated and the spectral analysis in IR was carried out. On the basis of the investigations the following conclusions can be drawn:

1. Humic acids constitute an indirect link between fulvic acids separated from the above soils and humic acids from brown coals.

2. Humic acids have many features of humus compounds *in statu nascendi*. It manifests itself in not particularly strong incorporation of protein (amino acids) and polysaccharic compounds into their structure, in a high value of the O:C ratios, in considerable share of molecules of groups containing oxygen (OH — phanols and COOH) in the structure, affecting their acidity.

3. The acids investigated can be distinguished as a specific group of humus compounds, differing from the separated type III of humic acids with a weak absorption of the band of 2860 cm^{-1}, with a strong and medium one in the range 1 of the waves of 1265—1200 cm^{-1} and from Rp — with higher oxygen content, and thus with lower O:C ratio.

Prof. dr hab. Ryszard Turski
Instytut Gleboznawstwa, Chemii
Rolnej i Mikrobiologii AR
Lublin, Leszczyńskiego 7