

SŁAWOMIR S. GONET, WOJCIECH WIŚNIEWSKI,
KAZIMIERA WEGNER

WŁAŚCIWOŚCI KWASÓW HUMINOWYCH EKSTRAHOWANYCH Z GLEB O RÓŻNYM NAWOŻENIU AZOTOWYM

Akademia Techniczno-Rolnicza w Bydgoszczy

WSTĘP

Kwasy huminowe i fulwowe spełniają w glebie istotną rolę, toteż wielu badaczy próbowało określić wpływ nawożenia mineralnego i organicznego na skład związków próchnicznych gleby [1, 8, 11, 12]. W doświadczeniach skierniewickich nawożenie obornikiem oraz obornikiem + NPK powodowało wzrost zawartości kwasów huminowych [10, 11]. Natomiast inni autorzy nie uzyskali większych różnic w składzie frakcyjnym próchnicy, dających się przypisać zróżnicowanemu nawożeniu [9—12]. Uważa się, że kwasy huminowe pochodzące z gleb nawożonych obornikiem odznaczają się dużą ilością łańcuchów bocznych, słabo skondensowanym jądrem aromatycznym, jak również małą gęstością optyczną, co świadczyć może o ich „chemicznej młodości” [11].

MATERIAŁ I METODY BADAŃ

Do badań użyto 8 próbek warstwy ornej gleb z doświadczenia nawozowego, prowadzonego na glebie płowej kompleksu żyniego dobrego w trzyletnim zmianowaniu: ziemniaki późne, żyto ozime 1, żyto ozime 2. Trzyletnie dawki nawożenia mineralnego oraz obornika podano w tab. 1. Nawożenie azotowe stanowiła saletra amonowa, fosforowe — superfosfat potrójny, potasowe — sól potasowa.

Szczegóły dotyczące doświadczenia oraz właściwości fizykochemiczne gleb przedstawiono w osobnej pracy [16].

Do ekstrakcji kwasów huminowych z gleb posłużono się metodą Schnitzera [13], polegającą na jednorazowej ekstrakcji związków próchnicznych 0,5 M NaOH, po uprzedniej dekalcytacji próbki. Kolejne etapy frakcjonowania przedstawiają się następująco:

Tabela 1

Trzyletnie dawki nawożenia mineralnego oraz obornika
Three-year rates of mineral fertilizers and farmyard manure

Kombinacja nawozowa Fertilizing treatment	N kg/ha	P kg/ha	K kg/ha	Obornik Farmyard manure t/ha
1	0	240	300	0
2	140	240	300	0
3	280	240	300	0
4	420	240	300	0
5	0	240	300	30
6	140	240	300	30
7	280	240	300	30
8	420	240	300	30

— dekalcytacja 0,25 M H_2SO_4 . Przyjęto stosunek gleby do roztworu 1:10, czas ekstrakcji 24 godziny. Po odwirowaniu roztworu pozostałość przemyto wodą destylowaną do odczynu obojętnego;

— ekstrakcja kwasów huminowych i fulwowych. Pozostałą po dekalcytacji próbkę gleby zalano 0,5 M NaOH (stosunek gleby do roztworu 1:10, czas ekstrakcji 24 godziny). Uzyskany roztwór oddzielono od osadu przez wirowanie. Otrzymany ekstrakt zawierał kwasy huminowe i fulwowe. Oznaczono w nim węgiel organiczny metodą Tiurina ($C_{Kh} + C_{Kf}$);

— wytrącanie kwasów huminowych. Otrzymany ekstrakt traktowano 2 M H_2SO_4 i doprowadzając roztwór do pH 2 strącono kwasy huminowe. Wytrącony osad odwirowano, w roztworze oznaczono węgiel kwasów fulwowych (C_{Kf}). Z różnicy między sumą węgla kwasów huminowych i fulwowych ($C_{Kh} + C_{Kf}$) oraz zawartością węgla kwasów fulwowych (C_{Kf}) oznaczono węgiel kwasów huminowych (C_{Kh});

— oczyszczanie kwasów huminowych. Wytrącone kwasy huminowe 3-krotnie wytrząsano z roztworem zawierającym 5 cm³ stężonego kwasu fluorowodorowego i 5 cm³ stężonego kwasu solnego. Pozostałe kwasy huminowe odmywano wodą destylowaną do zaniku reakcji na chlorki i suszono w eksykatorze nad P_2O_5 . Następnie roztarto je w moździerzu agatowym i przechowywano w szczelnie zamkniętych naczynkach szklanych.

W otrzymanych preparatach kwasów huminowych oznaczono:

— grupy funkcyjne karboksylowe i fenolowe metodą Schnitzera i Gupta [14]. Grupy karboksylowe oznaczono metodą z octanem wapnia, natomiast całkowitą kwasowość (sumę grup karboksylowych i fenolowych) — z wodorotlenkiem baru. Po dokonaniu obliczeń, z różnicy między całkowitą kwasowością a ilością grup karboksylowych wyliczono zawartość grup fenolowych;

— współczynnik $E_{4/6}$. Stosunek absorbancji przy długościach fal 465 i 665 nm wyznaczono dla roztworów kwasów huminowych w 0,025 M NaHCO_3 , stosując stężenia kwasów huminowych równe $200 \mu\text{g}/1 \text{ cm}^3$ [15]. Pomiaru dokonano na spektrofotometrze Specol 10;

— widma w podczerwieni — rejestrowano spektrofotometrem Spekord 74 w zakresie 2,2—1,5 μm (odpowiadającym liczbom falowym 667—4550 cm^{-1}) dla tabletek kwasów huminowych z KBr, używając 3 mg preparatu kwasów huminowych na 400 mg KBr;

— widma w ultrafiolecie — wykonano dla 0,001% roztworów kwasów huminowych w 0,025 M NaHCO_3 [15].

Badane kwasy huminowe oznakowano numerami zgodnymi z numeracją kombinacji nawożenia gleb, z których pobrano próbki do analiz.

OMÓWIENIE WYNIKÓW I Dyskusja

Po czterech latach na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że pod wpływem zróżnicowanego nawożenia azotowego skład frakcyjny próchnicy, oznaczony metodą Schnitzera, uległ niewielkim tylko zmianom. Zanotowano jedynie, że pod wpływem wzrastającej dawki nawozów azotowych w obiektach bez obornika wzrosła zawartość kwasów fulwowych (C_{Kf}), natomiast w obiektach nawożonych obornikiem stwierdzono zależność odwrotną. Porównując jednak średnie wyniki uzyskane z obiektów nawożonych obornikiem i NPK z obiektami nawożonymi nawozami mineralnymi azotowymi stwierdzono, że połączone nawożenie organiczno-mineralne spowodowało istotny wzrost ekstrahowanej sumy kwasów huminowych i fulwowych ($C_{Kh} + C_{Kf}$) oraz samych kwasów huminowych (C_{Kh}).

Biorąc pod uwagę znaczną rolę, jaką spełniają kwasy próchniczne, a szczególnie kwasy huminowe w procesach glebotwórczych i żyzności gleb należy uznać ten proces za bardzo korzystny. Uzyskane wyniki świadczą o istotnym działaniu obornika w kształtowaniu się składu frakcyjnego próchnicy (tab. 2).

Próbki glebowe do analiz pobierano w rok po drugiej dawce obornika. Przyjmuje się, że w ciągu jednego roku rozkłada się tylko 60—90% obornika, jeśli są oczywiście odpowiednie warunki klimatyczne, szczególnie wilgotność. Ponieważ ten niewątpliwie ważny czynnik, wpływający na procesy mineralizacji obornika, nie był przedmiotem badań, nie można wykluczyć, że obserwowane zmiany w ilości wyekstrahowanych połączeń próchnicznych były okresowe i spowodowane nagromadzeniem się w glebie nie w pełni jeszcze rozłożonej materii organicznej. Mogłaby ona wtedy przechodzić z gleby do roztworu w czasie ekstrakcji za pomocą lugów.

Ilościowym zmianom kwasów huminowych we wszystkich obiektach badanego doświadczenia nawozowego towarzyszyły zmiany stosunku kwa-

Tabela 2

Skład frakcyjny materii organicznej (C_{kh} — węgiel kwasów huminowych, C_{kf} — węgiel kwasów fulwowych) oraz właściwości wyekstrahowanych kwasów huminowych z różnie nawożonych gleb

Fractional composition of organic matter (C_{kh} — carbon of humic acids, C_{kf} — carbon of fulvic acids) and properties of humic acids extracted from differently fertilized soils

Kombinacja nawozowa Fertilizing treatment	Węgiel ogółem Total carbon C_{og} %	Azot ogółem Total nitrogen N_{og} %	C/N	$C_{kh} + C_{kf}$ w-in % C_{og}	C_{kh} w-in % C_{og}	C_{kf} w-in % C_{og}	$\frac{C_{kh}}{C_{kf}}$	A	B	C	$E_{4/6}$
								meq/g			
1	0,677	0,072	9,42	30,48	15,99	14,49	1,10	9,7	6,9	2,8	5,1
2	0,745	0,082	9,00	27,23	16,93	10,29	1,64	9,7	6,9	2,8	5,0
3	0,800	0,062	12,00	29,15	17,44	11,71	1,72	9,8	7,0	2,9	4,7
4	0,704	0,075	9,43	30,30	17,08	13,21	1,29	10,0	7,1	2,9	4,9
\bar{X} 2, 3, 4	0,750	0,075	10,14	28,89	17,18	11,40	1,55	9,8	6,9	2,8	4,9
5	0,859	0,084	9,80	35,98	20,65	15,33	1,34	9,7	6,4	3,3	5,5
6	0,830	0,086	9,70	33,32	19,51	13,81	1,41	9,6	6,7	2,9	5,1
7	0,807	0,083	9,75	34,15	20,08	14,07	1,43	9,5	6,5	2,9	5,2
8	0,866	0,072	13,07	31,15	19,68	11,44	1,72	9,2	6,8	3,0	5,2
\bar{X} 6, 7, 8	0,834*	0,080	10,84	32,86*	19,76*	13,01	1,52	9,5	6,7	3,0	5,3

* Istotne przy $\alpha=0,05$

Significant at $\alpha=0,05$

A — całkowita kwasowość — total acidity

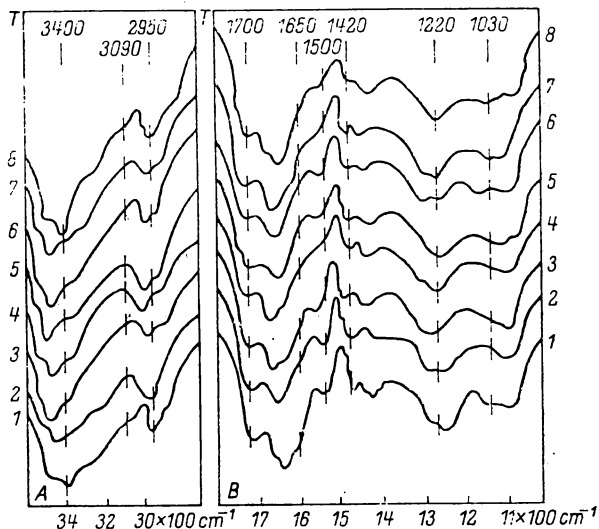
B — zawartość grup -COOH — content of -COOH groups

C — zawartość grup -OH — content of -OH groups

sów huminowych do kwasów fulwowych C_{Kh}/C_{Kf} . Na obiekcie kontrolnym (1) stosunek ten wynosił 1,1, na obiekcie nawożonym obornikiem (5) 1,34, natomiast średnie wartości tego stosunku na glebach nawożonych wyłącznie nawozami mineralnymi azotowymi (\bar{X} 2, 3, 4) oraz obornikiem + NPK (\bar{X} 6, 7, 8), były zbliżone i wynosiły 1,52—1,56.

Na podstawie badań kwasów huminowych wyekstrahowanych z gleb o różnym nawożeniu można ogólnie stwierdzić, że są one w zasadzie podobne. Nie stwierdzono różnic w ilości grup karboksylowych i fenolowych dających się przypisać stosowanemu nawożeniu. Natomiast współczynnik $E_{4/6}$ przyjmował nieco wyższe wartości dla gleb nawożonych obornikiem + NPK. Z badań przeprowadzonych przez Schnitzera [14, 13] wynika, że współczynnik ten maleje ze wzrostem masy cząsteczkowej kwasów próchnicznych, zawartości węgla w cząsteczkach tych kwasów oraz ilości grup karboksylowych. Na tej podstawie można wnioskować, że kwasy huminowe wyizolowane z gleb obiektów nawożonych obornikiem + NPK mają nieco niższą masę cząsteczkową niż wyodrębnione z gleb obiektów z nawożeniem mineralnym.

Analizując przebieg widm w podczerwieni (ryc. 1) zaobserwowano w miarę wzrostu dawki mineralnego nawożenia azotowego zmniejszenie intensywności pasma absorpcyjnego w zakresie $1510\text{--}1530\text{ cm}^{-1}$ (zarówno dla obiektów nawożonych, jak i nie nawożonych obornikiem). Ponieważ



Ryc. 1. Widma w podczerwieni kwasów huminowych ekstrahowanych z gleb o różnym nawożeniu

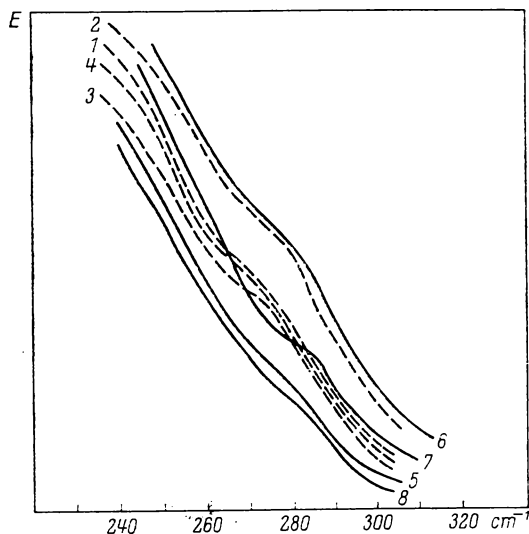
A — w zakresie $2800\text{--}3600\text{ cm}^{-1}$, B — w zakresie $1000\text{--}1800\text{ cm}^{-1}$

Fig. 1. IR spectra of humic acids extracted from differently fertilized soils

A — range $2800\text{--}3600\text{ cm}^{-1}$, B — range $1000\text{--}1800\text{ cm}^{-1}$

zakres ten odpowiada drganiom wiązań $C = C$ w związkach aromatycznych [2, 5, 6], można przypuszczać, że wskutek zwiększającej się dawki nawożenia mineralnego azotowego zachodzą zmiany we właściwościach kwasów huminowych, zmierzające w kierunku zmniejszenia grup aromatycznych zawartych w tych kwasach.

Stwierdzono również odmienny obraz widma w zakresie $1600\text{--}1700\text{ cm}^{-1}$ dla obiektu 5 w porównaniu z innymi próbkami, co może być spowodowane szczególnie dużą „aromatycznością” tego preparatu kwasów huminowych. Warto zaznaczyć, że podobne rezultaty uzyskał Łakomic [12], który również stwierdził podobne stosunki na podstawie badań widm IR kwasów huminowych wyekstrahowanych z gleb nawożonych obornikiem.



Ryc. 2. Widma w ultrafiolecie kwasów huminowych ekstrahowanych z gleb o różnym nawożeniu

Fig. 2. UV spectra of humic acids extracted from differently fertilized soils

Omówione różnice są jednak niewielkie i niepewne. Wskazuje to na potrzebę zastosowania równolegle innych metod w badaniach.

Widma kwasów huminowych uzyskane w ultrafiolecie (ryc. 2) są analogiczne do widm naturalnych związków organicznych zawierających ogniwo aromatyczne [3]. Są również podobne do widm związków zawierających znaczne ilości grup chromoforowych, sprzężonych z ogniwiem aromatycznym drobin [4, 15].

Według Dubina [3] interpretacji poddaje się pasma w zakresie $275\text{--}280\text{ nm}$, których intensywność miałaby być uzależniona od aromatycznego charakteru kwasów huminowych. W naszych badaniach stwierdzono najniższą absorpcję dla kwasów huminowych z obiektu 8, nawożonego obornikiem + NPK, oraz obiektów 3 i 4 nawożonych wyłącznie nawozami mineralnymi. Dla powyższych próbek analiza IR wykazała również mniejszą „aromatyczność”.

Podsumowując należy stwierdzić, że pomimo zasadniczego podobieństwa związków humusowych z gleb o zróżnicowanym nawożeniu, występują jednak pewne istotne różnice w ich właściwościach.

WNIOSKI

— Nawożenie obornikiem spowodowało wzrost sumy frakcji kwasów huminowych i fulwowych, a także wzrost samych kwasów huminowych ekstrahowanych metodą Schnitzera, w porównaniu z obiektami nawożonymi wyłącznie nawozami mineralnymi.

— Właściwości kwasów huminowych wyekstrahowanych z gleb o różnym nawożeniu były na ogół podobne. Kwasy huminowe pochodzące z obiektów nawożonych nawozami mineralnymi oraz obornikiem odznaczały się najwyższą wartością współczynnika $E_{4/6}$. Ze wzrostem dawki mineralnego nawożenia azotowego następowało zmniejszenie „aromatyczności” kwasów huminowych, natomiast działanie obornika było odwrotne.

LITERATURA

- [1] Boratyński K., Kowaliński S.: Skład frakcyjny związków próchnicznych gleb wytworzonych w różnych strefach bioekologicznych. *Rocz. glebozn.* 12, 1962, 85—97.
- [2] Drozd J., Jongerius A., Kowaliński S.: The properties of humus compounds in some dutch podzol soils. Department of Soil Sci. Academy of Agriculture, Wrocław Poland 1978, 65—75.
- [3] Dubin B.: Tiermowiesnowaja charakteristika i kineticzeskije parametry tiermodiestrukciji gumusowych kislot osnovnych tipow poczw Mołdawii. *Poczwowied.* 9, 1970, 70—88.
- [4] Flip Z., Halder K., Beutelspacher H., Martin P.: Comparison of IR-spectra from melanins of microscopis soil fungi, humic acids and model phenol polymers. *Geoderma* 11, 1974, 37—52.
- [5] Goh K. M., Stevenson F. J.: Comparison of infrared spectra of synthetic and natural humic and fulvic acid. *Soil Sci.* 112, 1971, 6, 341—392.
- [6] Gołębiowska D.: Metody optyczne w badaniach substancji humusowych. *Zesz. nauk. WSR w Szczecinie* 32, 1970, 133—142.
- [7] Kononowa N., Bieliczkowa J.: Uskoriennyej metody opriedielenija sostawa gumusa minieralnych poczw. *Poczwowied.* 10, 1961, 75—87.
- [8] Kowaliński S., Drozd J., Licznar M.: Badania nad wyczerpującą analizą frakcjonowania związków próchnicznych niektórych gleb. *Rocz. glebozn.* 24, 1973, 1, 103—127.
- [9] Kowaliński S., Drozd J., Licznar M.: Skład frakcyjny związków próchnicznych pod roślinnością uprawianą w monokulturze i zmianowaniu. *Zesz. nauk ART Olsztyn, Rolnictwo* 29, 1980, 23—31.
- [10] Kowaliński S., Drozd J., Licznar M.: Związki próchniczne na tle ich fizykochemicznych właściwości. *Rocz. glebozn.* 24, 1973, 1, 3—35.

- [11] Kuszewski L.: Wpływ nawożenia organicznego i mineralnego na zawartość i niektóre wskaźniki jakościowe substancji próchnicznych, gleby. Roczn. Nauk rol. 98, 1972, 1, 7—27.
- [12] Łakomic J.: Przemiany substancji organicznych w glebie pod wpływem zmianowania i nawożenia. Sprawozdanie MR II-23.8. PAN, 1983.
- [13] Schnitzer M., Khan S.: Soil organic matter. Elsevier Sc. Pub. Comp. Amsterdam, London, New York 1978.
- [14] Schnitzer M., Gupta U.: Determination of acidity on soil organic matter. Soil Sci. Am. Proc. 29, 1970, 3, 274—277.
- [15] Theng B. K., Wake J., Posner A.: The humic acids extracted by various reagents a soil. II Infra-red, visible, and ultra-violet absorption spectra. Journal of Soil Sci. 18, 1967, 2, 349—363.
- [16] Wiśniewski W., Wegner K., Gonet S. S.: Wpływ mineralnego i organicznego nawożenia azotowego na jakość próchnicy. Roczn. glebozn. w tym numerze, str. 287—294.

С. С. ГОНЭТ, В. ВИСЬНЕВСКИ, К. ВЕГНЕР

СВОЙСТВА ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ ЭКСТРАГИРОВАННЫХ ИЗ ПОЧВ РАЗЛИЧНО УДОБРЯЕМЫХ АЗОТОМ

Сельскохозяйственно-технический университет в Быдгоще

Резюме

В удобрительном опыте с 3-полным севооборотом (картофель, озимая рожь, озимая рожь) исследовали восемь образцов почвы. Образцы были отобраны из полей различно удобряемых азотом (140, 280 и 420 кг N/га за на 3 года) с внесением или без внесения стойлового навоза. Гуминовые кислоты экстрагировали по методу Шнитцера (однократная экстракция 0,5 М NaOH после декадцитации). Для полученных препаратов гуминовых кислот определяли состав функциональных групп, коэффициент $E_{4/6}$, а также спектры ИК и УФ. Удобрение стойловым навозом приводило к существенному повышению суммы гуминовых и фульвовых кислот или одних гуминовых кислот. В вариантах без стойлового навоза с повышенным уровнем азотного удобрения наблюдался прирост фульвовых кислот. В вариантах со стойловым навозом было обратное соотношение. Свойства экстрагированных гуминовых кислот были, в общем, сходными. Гуминовые кислоты из почв удобряемых стойловым навозом показывали более высокие значения коэффициента $E_{4/6}$ и несколько более узкий предел спектра УФ в сравнении с гуминовыми кислотами из почв с одним минеральным удобрением. Не установлены существенные различия в составе функциональных групп гуминовых кислот из образцов отобранных с различно удобряемых объектов. Анализ ИК спектров указывал на более слабую ароматическую структуру гуминовых кислот под воздействием азотного удобрения.

S. S. GONET, W. WIŚNIEWSKI, K. WEGNER

PROPERTIES OF THE HUMIC ACIDS EXTRATED FROM THE SOILS
WITH DIFFERENT NITROGEN FERTILIZATION

University of Technology and Agriculture in Bydgoszcz

Summary

Eight samples of soils from a fertilizing experiment with three-year crop rotation (potatoes, winter rye, winter rye) were investigated. The samples were taken from the fields with different nitrogen fertilization (140, 280 and 420 kg N/ha for three years) applied with or without farmyard manure. Humic acids were extracted according to Schnitzer (one time extraction with 0.5 M NaOH after decalcitation). For the obtained humic acid preparations the composition of functional groups, $E_{4/6}$ coefficient and IR and UV spectra were determined. Farmyard manure caused a significant increase of the extracted sum of humic and fulvic acids and humic acids only. In the treatments without farmyard manure, an increment of the content of fulvic acids along with an increase of the nitrogen fertilization rate was observed. In the treatments with farmyard manure the above relationship showed an opposite effect. Properties of the extracted humic acids were, on the whole, similar. Humic acids from soils fertilized with farmyard manure showed higher value of $E_{4/6}$ coefficient and somewhat less absorption in the UV range as compared with humic acids from soils which were fertilized only with mineral elements. No significant differences in the composition of functional groups of humic acids from the samples taken from the treatments of different fertilization were found. The analysis of IR spectra suggests the decrement of the humic acid "aromatic structure" under the nitrogen fertilization effect.

Dr S. S. Gonet
Zakład Chemicznych
Podstaw Rolnictwa ATR
Bydgoszcz, Bernardyńska 6

