ACTA AGROBOTANICA
VOL. IX, nr 1 — 1960

Stan badań nad chemizmem próchnicy

Der Untersuchungsstand des Chemismus der Humussubstanz

JAN WOJCIECHOWSKI

Przed przystąpieniem do omówienia nowszych badań dotyczących składu i budowy chemicznej humusu należy określić, co rozumiemy pod pojęciem — humus. Dawniej bardzo często określano tym terminem całość materii organicznej, która podlegała procesom rozkładu. Obecnie nazwą humusu określamy mieszaninę związków ciemno zabarwionych, powstałych w wyniku degradacji roślinnej i zwierzęcej materii organicznej przy udziale mikroflory i mikrofauny. W warunkach naturalnych nie zawsze z materii organicznej powstaje humus. Wszędzie tam, gdzie mikroorganizmy znajdują bardzo korzystne warunki rozwoju, obumarłe roślinne i zwierzęce resztki organiczne ulegają tak szybko całkowitemu rozkładowi, że nie ma możliwości nagromadzania się jakichkolwiek pośrednich produktów rozkładu. Jedynie w wypadku niecałkowitego rozkładu substancji organicznej na drodze mikrobiologicznej znajdujemy w glebach, torfach, kompostach, oborniku itd., bezstrukturalne substancje organiczne barwy brunatnej do ciemnobrunatnej, ściśle powiązane z cząsteczkami mineralnymi. Te ustabilizowane substancje organiczne jako właściwe związki próchniczne, względnie trwałe, nie są już odpowiednim materiałem pokarmowym dla mikroorganizmów. Właściwe związki próchniczne wyraźnie odróżniają się zarówno od nierozłożonej materii organicznej jak i od pośrednich produktów rozkładu.

Problem wyizolowania związków próchnicznych ze środowiska stanowił pierwszy etap na drodze poznania ich budowy chemicznej. Zadanie to nie było łatwe, ponieważ połączenia te wykazują dużą wrażliwość na rodzaj i stężenie czynnika ekstrahującego, wartość pH i obecność tlenu.

Metody ekstrakcji jak i frakcjonowania związków próchnicznych rozwijały się historycznie.

Stosowane początkowo środki alkaliczne tego rodzaju jak rozcieńczony ług sodowy (1,2 wzgl. 5%), węglan sodu, amoniak, aczkolwiek pozwoliły na oddzielenie pewnej grupy substancji humusowych od nierozpuszczalnych (w nich) resztek roślinnych i nierozpuszczalnych humin, to jednak z uwagi na stwierdzone później działanie naruszające pierwotną strukturę związków próchnicznych i utlenianie się w środowisku alkalicznym oraz możliwość przechodzenia do roztworu innych nietypowych związków, nie mogły być

stosowane w dalszych badaniach nad budową chemiczną humusu. Niemniej jednak te wstępne badania, przy użyciu rozpuszczalników alkalicznych i przy stosowaniu dalszych manipulacji chemicznych, polegających na kilkakrotnym wytrącaniu kwasami i ponownym rozpuszczaniu w alkaliach i alkoholu, pozwoliły na wyodrębnienie kilku frakcji. Na tej zasadzie ustalony przez Sven Odena podział związków próchnicznych przedstawia się następująco:

1. fulwokwasy — rozpuszczalne w rozcieńczonych kwasach i zasadach,
2. kwasy huminowe — najliczniejsza grupa związków humusu — rozpuszczalne w alkaliach i nierozpuszczalne w kwasach,
3. kwasy hymatomelanowe — rozpuszczalne w alkoholu, będące frakcją kwasów huminowych,
4. huminy — rozpuszczalne jedynie na gorąco w stężonych alkaliach.

Wszystkie wymienione frakcje tworzące w sumie to, co nazywamy humusem, mają charakter kwasowy. Stała dysocjacji najliczniejszej frakcji — kwasów huminowych — jest bardzo niska.

Dalszy postęp w dziedzinie metod oddzielenia właściwych związków próchnicznych od materii nieshumifikowanej należy przypisać uczonym niemieckim Springerowi i Simonowi. Metoda Springera opiera się na stwierdzeniu, że bromek acetylu rozpuszcza tylko nieshumifikowaną materię organiczną, natomiast właściwy humus pozostaje nierozpuszczony. Tego rodzaju technika postępowania umożliwia ocenę stopnia rozkładu materii organicznej zarówno w glebie, jak również w kompostach i nawozach organicznych.

Dalszym udoskonaleniem w metodach ekstrakcji związków próchnicznych było zastąpienie ługu sodowego, względnie węglanów metali alkalicznych, łagodniejszymi środkami ekstrahującymi jak: fluorek sodu, szczawian sodu, szczawian amonu lub cytrynian sodu. Te organiczne sole, chociaż bardziej przydatne od uprzednio stosowanych środków alkalicznych, jednak dla utrzymania pH w pobliżu punktu neutralnego w czasie długotrwałej reakcji wymagały stałego zakwaszania. Poza tym są one związkami organicznymi mogącymi ubocznie reagować, a tym samym komplikować pierwotny charakter związków próchnicznych.

Ostatnio w krajach anglosaskich wprowadzono do ekstrakcji związków próchnicznych roztwór pyrofosforanu sodu ($Na_4P_2O_7 \cdot 10H_2O$).

Chociaż ilość wyekstrahowanego tym rozpuszczalnikiem humusu jest nieco mniejsza aniżeli uzyskana przy pomocy alkalii, to jednak uzyskano tą drogą te same frakcje związków próchnicznych. Zaletą tego rozpuszczalnika jest to, że ekstrahowane substancje nie utleniają się w neutralnych i kwaśnych roztworach. Z chwilą gdy roztwór słabo alkalizowano, natychmiast zachodził proces autooksydacji powodując tym samym zmianę w składzie i budowie związków próchnicznych.

W ostatecznym wyniku ulepszonych metod ekstracji, po uprzednim oddzieleniu towarzyszących substancji bitumicznych, materię shumifikowaną, w całości nazwaną właściwym humusem, można podzielić na następujące grupy związków:

I. Kwasy humusowe w formie wolnej i związanej

1. Kwasy huminowe
   a. kwasy huminowe właściwe — ciemne
   b. kwasy huminowe brunatne — kwasy ulminowe
2. Fulwokwasy
   a. kwasy krenowe
   b. kwasy apokrenowe

II. Huminy i ulminy

Z punktu widzenia badania budowy chemicznej i procesu tworzenia się substancji humusowych w warunkach naturalnych wchodzą w rachubę tylko kwasy humusowe grupy I z ich rozbiciem na poszczególne frakcje z uwagi na to, że przechodzą do roztworu bez naruszenia budowy. Natomiast badania grupy substancji zwanych huminami i ulminami, będących produktami dalekiego utleniania kwasów humusowych, napotykają poważne trudności ze względu na niemożność przeprowadzenia ich w stan roztworu bez naruszenia ich budowy chemicznej.

Zanim przystąpię do omówienia teorii dotyczących budowy kwasów próchnicznych, podam krótką ogólną fizykochemiczną charakterystykę poszczególnych grup związków należących do kwasów humusowych.

Cechami głównymi, na podstawie których charakteryzuje się kwasy humusowe, są: stopień dyspersji, kondensacji, względnie polimeryzacji, barwa, różnice w występowaniu charakterystycznych grup i rodników, różnice w zachowaniu się wobec odczynników chemicznych oraz różnice w podatności na utlenianie i zachowanie wobec mikroorganizmów. Podkreślić należy, że nawet w obrębie jednej i tej samej frakcji otrzymanej przy standardowej technice postępowania mogą zachodzić różnice, wynikające z samego pochodzenia materiału. Różnice te są przede wszystkim wywołane jakością i ilością substancji towarzyszących właściwej frakcji humusowej. Tak na przykład we frakcji kwasów huminowych w zależności od materiału wyjściowego mogą się znaleźć występujące w różnym stosunku kwasy huminowe o zabarwieniu szarym lub brunatnym oraz inne kwasy nazwane kwasami hymatomelanowymi.

Kwasy huminowe

Jak już wspomniano i jak wynika z klasyfikacji związków humusowych, bardzo często we frakcji określanej mianem kwasów huminowych, można przy pomocy odpowiednio uregulowanego roztworu NaOH wyróżnić dwie

podfrakcje, a mianowicie: szary kwas huminowy rozpuszczalny i brunatny kwas huminowy pozostający w osadzie. Brunatne kwasy huminowe, zwane również ulminowymi, charakteryzują się większą zawartością azotu, w wodzie wykazują kolor brunatny i łatwiej dyspergują.

W oczyszczonym stanie kwasy huminowe jako suche preparaty są substancjami ciemnobrunatnymi lub czarno zabarwionymi o metalicznym połysku i znacznej twardości. Są całkowicie odporne na wielodniowe działanie bromkiem acetylu w temperaturze 40—50°C. Jako sole metali alkalicznych są łatwo rozpuszczalne, natomiast ich sole żelaza, glinu i wapnia nie przechodzą do roztworu. Przy neutralnej lub słabo kwaśnej reakcji środowiska, jak to ostatnio wykazał Flaig przy pomocy mikroskopu elektronowego, kwasy huminowe tworzą polidyspersoidy; natomiast w środowisku alkalicznym dają właściwe monomolekularne roztwory. Ciężar molekularny kwasów huminowych nie jest jeszcze dokładnie ustalony, przyjmuje się wg różnych autorów 1200 względnie 1350; ich ciężar równoważnikowy zbadany na podstawie przewodnictwa wynosi ok. 340. Są to więc wielowartościowe, słabe kwasy, tak że ich sole metali alkalicznych reagują zasadowo. Skład elementarny kwasów huminowych przedstawia się następująco: C — 52—62%, H — 3—4,8%, O — 32—39%, N — 3,5—4,5%.

Kwasy huminowe w warunkach naturalnych występują pod postacią soli i wolnych kwasów. Zarówno w postaci wolnej, jak i związanej są powoli atakowane przez bakterie (*Actinomycetes*) i grzyby.

Fulwokwasy (kwasy krenowe i apokrenowe)

Kwasy fulwowe rozpuszczają się w wodzie, kwasach, roztworach alkalicznych, zabarwiając je na kolor żółty. Ich sole Ca, Mg, i Fe są rozpuszczalne w wodzie w przeciwieństwie do soli kwasów huminowych; bromek acetylu rozkłada je. W alkoholu są również rozpuszczalne. Z roztworów wodnych dializują przez błony kuprofanowe bardzo wolno tak, że mogą być przez dializę uwolnione od towarzyszących im składników mineralnych. Sole barowe kwasów krenowych są rozpuszczalne w wodzie, natomiast podobne sole kwasu apokrenowego są nierozpuszczalne. Według Simona wyżej nazwana kwasem humo-ligninowym molekularna frakcja kwasów fulwonowych, wytrącalna kwasem solnym, tworząca czerwone zabarwienie, ma charakter przejściowy między ligniną a kwasami huminowymi. Niektórzy badacze uważają kwas apokrenowy za produkt utleniania kwasu krenowego. Fulwokwasy podobnie jak kwasy huminowe są oksykarboksylowymi kwasami, jednakże w roztworach silniej dysocjują od tych ostatnich. Ciężar równoważnikowy kwasów fulwonowych wynosi około 300. Elementarny skład fulwokwasów przedstawia się wg Kononowej następ.: C — 44—48%, H — 4—5,5%, O — 44—48%, N — 1,5—2,5%.

Budowa chemiczna fulwokwasów nie jest dotychczas zbadana, przypuszcza się tylko, że mają one zasadniczo budowę podobną do kwasów huminowych, lecz znajdują się na niższym stopniu kondensacji. W związku z tym wśród wielu badaczy istnieje mniemanie, że fulwokwasy występujące w każdej próchnicy są związkami przejściowymi, z których w odpowiednich warunkach tworzą się kwasy huminowe. I tak na przykład Laatschowi udało się z dializowanych fulwokwasów, otrzymanych z różnych gleb, przez zagęszczenie ich roztworu w temperaturze pokojowej otrzymać kwasy huminowe. W innym przypadku z oczyszczonego roztworu fulwokwasów, zagęszczonego pod zmniejszonym ciśnieniem do 1/10 początkowej objętości przy temperaturze 35°C, po kilku dniach pozostawania w pokojowej temperaturze wypadł brunatny osad. Wytrącony osad rozpuszczał się nieznacznie albo wcale w alkoholu i w bromku acetylowym, natomiast rozpuszczał się we fluorku sodu (NaF). Mały dodatek amoniaku lub soli amonowych przyspieszał kondensację fulwokwasów. Ponadto piękne badania Hudiga i Van Reesemy prowadzone na wysokim torfie potwierdzają to samo zjawisko. Jak wiadomo, w torfie wysokim, a więc w środowisku kwaśnym i zredukowanym, przede wszystkim nagromadzają się fulwokwasy. Po zalkalizowaniu takiego środowiska zasadami metali alkalicznych (Li, Na i K) autooksydacja wg Hudiga i Van Reesemy zachodziła niezwykle gwałtownie. Pobieranie tlenu i wydzielanie CO_2 było duże, a wyekstrahowane związki miały charakter kwasów huminowych. Wysokostabilne kwasy huminowe otrzymali Hudig i Van Reesema z torfu przez utlenianie go mieszaniną złożoną z tlenu i amoniaku w określonym stosunku. Mieszanina gazów była wtłaczana pod ciśnieniem około 10 atmosfer przy temperaturze 100—130°C. Jak autorzy stwierdzili, amoniak został związany nie jako jon amonowy, lecz został wbudowany w jądro cząsteczki kwasu huminowego.

Elementarny skład otrzymanych kwasów huminowych przedstawiał się następująco: C — 50%, H — 6%, O — 33%, N — 4% (w jądrze). Skład powyższy odpowiada najszlachetniejszym bogatym w azot kwasom huminowym czarnoziemów. Chemiczne procesy, które w krótkim czasie zachodzą w autoklawie Hudiga (przy dość wysokiej temperaturze i ciśnieniu), mogą również zachodzić w glebie w podobny sposób, jednakże w warunkach fizjologicznych przy współudziale fermentów przenoszących tlen.

Hudig i Van Reesema zaobserwowali jeszcze ciekawy fakt, że na próchnicy surowej (Moor) bagnisk Holandii występują wyraźnie czarne, wybitnie gruzełkowate, dobrze uwilgotnione formy humusu wszędzie tam, gdzie próchnica surowa została wymieszana z odpadkami miejskimi bogatymi w białko. W tych warunkach z nagromadzonych fulwokwasów powstają trwałe, bogate w azot kwasy huminowe.

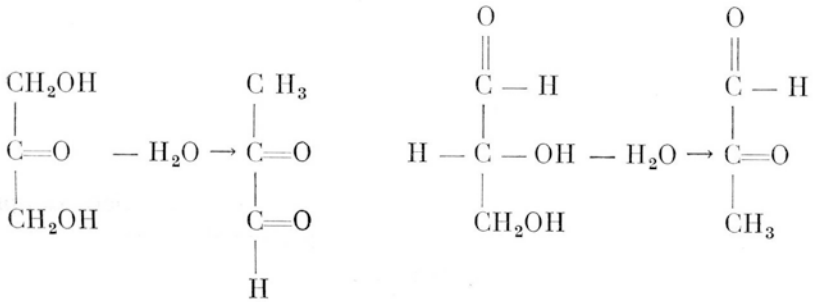
Te wszystkie zebrane fakty pozwoliły Endersowi wysunąć przy-

puszczenie, że większa część fulwokwasów, kwasów humo-ligninowych i kwasów huminowych jest zbudowana według jednolitej zasady, a różnice między nimi polegają na różnym stopniu kondensacji. Poza tym wszystkie wyżej wymienione obserwacje dotyczące przemiany kwasów fulwonowych w warunkach naturalnych, jak i obserwacje nad powstawaniem różnych substancji ciemnych w reakcji Maillarda, a przede wszystkim reakcje związane z utlenianiem fenoli i polifenoli, prowadzące w rezultacie do powstania ciemnych substancji melanoidowych, były punktem wyjścia do badań nad syntezą związków próchnicznych. W latach 1921, 1922, 1923, 1925 W. Ellerowi udało się z fenoli, polifenoli i amoniaku otrzymać na drodze polimeryzacji sztuczne kwasy huminowe. Również w nowszych badaniach C. Enders (1942, 1943) w nieco inny sposób z biologicznego produktu rozpadu cukrowców — metyloglioksalu oraz amoniaku otrzymał podobne substancje humusowe.

Te syntetyczne związki humusowe wykazują wiele podobnych właściwości do naturalnych związków humusowych. Wyjściowymi substancjami używanymi do syntezy kwasów huminowych według metody Ellera były następujące polifenole: pyrokatechina, hydrochinon, oksyhydrochinon i chinon. Roztwory tych związków zalkalizowane amoniakiem i utleniane $KMnO_4$ albo H_2O_2 zabarwiały się po pewnym czasie na kolor ciemno-brunatny. Zakwaszenie zabarwionych roztworów kwasem solnym spowodowało wytrącanie się osadu. Wszystkie wymienione wyżej substancje po utlenieniu przeszły w oksychinon ($C_6H_4O_3$), który z kolei na drodze polimeryzacji dawał ciemno zabarwione substancje. Eller wykazał, że podobne reakcje mogą zachodzić w obecności powietrza i w neutralnym lub słabo alkalicznym środowisku, lecz wtenczas przebieg reakcji jest wolniejszy i wydajność fenolowych kwasów huminowych jest mniejsza. Jeśli substancją wyjściową jest chinon, to reakcja według Ellera może przebiegać w atmosferze beztlenowej i bez obecności mikroorganizmów. Reasumując wyniki badań Ellera można powiedzieć, że podstawową jednostką budulcową kwasów huminowych są wszystkie związki organiczne, które mają ugrupowanie chinoidowe. W związku z tym twierdzi Eller, że w zależności od rodzaju związku chinoidowego powstałe produkty kondensacji mogą się nieco różnić, podobnie jak to jest z naturalnymi kwasami huminowymi nie posiadającymi stałego składu. Następnie autor w swoich badaniach silnie podkreśla znaczenie azotu dla nadania odpowiednich właściwości kwasom huminowym. W swych modelowych kwasach huminowych bogatych w azot Eller udowodnił, że azot amoniaku nie występuje w postaci jonu amonowego, ale zostaje silnie wbudowany w cząsteczkę kwasu huminowego. Według badań autora w amoniakalnym roztworze powstają kwasy huminowe tym bogatsze w azot, im wyższa jest koncentracja amoniaku i im wolniej przebiega proces oksydacji i polimeryzacji. Jak już wspomniano, wyniki badań na modelach

pokrywają się w dużej mierze z wynikami badań budowy naturalnych kwasów huminowych. Podkreślenie znaczenia azotu amoniakalnego, względnie określonych połączeń aminowych, dla syntezy kwasów huminowych może być ocenione jako słuszne, o ile weźmie się pod uwagę również pierwsze produkty syntezy, mianowicie fulwokwasy, ponieważ tworzenie się kwasów huminowych zachodzi poprzez fulwokwasy.

Z kolei pragnę krótko omówić teorię metyloglioksalową Endersa dotyczącą budowy związków próchnicznych. Znaczenie, które Enders przypisuje metyloglioksalowi w budowie kwasów huminowych, opiera się na obserwacjach zaburzeń, jakie zachodzą przy enzymatycznej odbudowie cukrów. Enders uważa, że w wyniku uszkodzeń drobnoustrojów odbudowujących cukry zachodzi dezorganizacja czynnych fermentów i w takim układzie nie stwierdza się oksydo-redukcji pierwszych produktów rozszczepienia. Te pierwsze produkty zostają odfosforylowane i powstające triozy (aldehyd glicerynowy i dwuhydroksyaceton) przechodzą w metyloglioksal ($CH_3 \cdot CO \cdot CHO$).



Enders przypuszcza, że na drodze podwójnej aldolowej kondensacji z dwóch drobin metyloglioksalu tworzy się pierścień sześciowęglowy, z którego po odszczepieniu wody tworzy się chinon. Na możliwość takiej reakcji zwrócili już wcześniej uwagę Hahn i Schales (1934). Z chwilą powstania chinonnu dalszy bieg reakcji jest podobny do reakcji ze związkami polifenolowymi. O ile powyższa koncepcja tworzenia się chinonu jest słuszna, to w takim razie w glebie mogą powstawać kwasy huminowe z dwóch (substancje fenolowe i metyloglioksal) całkiem różnych grup związków.

Enders wyjaśnia, że uszkodzenia mikroorganizmów rozkładających cukry można dokonać przez zatrucie na przykład toluolem, a w warunkach naturalnych następuje to wówczas, gdy kultury w ciągu pewnego czasu znajdą się w złych warunkach życiowych.

Enders dalej wykazał, że w roztworach wodnych przy zetknięciu się metyloglioksalu z połączeniami zawierającymi grupy aminowe (amoniak, aminy, aminokwasy) powstają brunatne produkty polimeryzacji. Z chwilą wyłączenia z pożywki połączeń posiadających grupy aminowe, brunatne

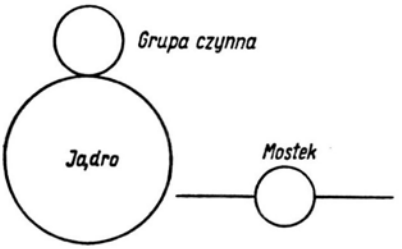
związki nie tworzą się. Szybkość polimeryzacji jest związana z koncentracją metyloglioksalu, słabo alkaliczną reakcją i temperaturą. Według badań autora (E n d e r s), okazuje się, że najprostsze, pierwsze frakcje kwasów humusowych, a więc fulwokwasy wszystkich trzech grup (naturalne, fenolowe i metyloglioksalowe), wykazują na tlenku glinowym w świetle ultrafioletowym fluorescencję od białej do żółtej. W miarę postępującego stopnia polimeryzacji barwa fluorescencji wzmaga się przechodząc przez jasnobrunatną do czarnobrunatnej. Metyloglioksalowe kwasy huminowe, jak również naturalne i fenolowe, przechodzą pod wpływem amalgamatu sodowego w bezbarwne zredukowane leukozwiązki. Na powietrzu wskutek autooksydacji produkty redukcji bardzo szybko przechodzą z powrotem w substancje wyjściowe.

Mimo wielu jeszcze innych podobieństw fenolowych i metyloglioksalowych związków próchnicznych, zwłaszcza tych znajdujących się na niższym stopniu kondensacji (fulwokwasy), z naturalnymi związkami próchnicznymi istnieją jednak duże różnice w składzie chemicznym i własnościach koloidochemicznych. Różnice te, jak to się okaże w wyniku późniejszych badań, są najprawdopodobniej wywołane obecnością pewnych związków nieorganicznych i organicznych, stosunkowo luźno związanych z podstawowym rdzeniem kwasów humusowych.

Dużym postępem w dziedzinie chemii humusu były badania H. T h i e l e i H. K e t t n e r a opublikowane w r. 1953. W tej obszernej pracy, mającej wybitnie analityczny charakter, autorzy zajęli się przede wszystkim budową chemiczną kwasów huminowych oraz substancjami wyjściowymi potrzebnymi do ich syntezy.

T h i e l e i K e t t n e r jak i wielu innych badaczy uważają, że dzisiaj pod pojęciem — kwasy huminowe — należy rozumieć szereg połączeń chemicznych, mających pewne wspólne własności. Autorzy stwierdzają, że nie mogą to być ściśle określone indywidua chemiczne choćby z tego względu, że zarówno w laboratorium, jak i w naturze mogą powstać z różnych materiałów wyjściowych. Można by je porównać z białkami, które jak wiadomo są zbudowane z różnych aminokwasów według jednej i tej samej zasady, posiadają wiele wspólnych właściwości, a mimo to różnią się między sobą. Określenie budowy kwasów huminowych napotyka na jeszcze większe trudności aniżeli u białek, ze względu na wrażliwość tych ciał w trakcie procesów odbudowy chemicznej. Analiza struktury kwasów huminowych przy obecnym jeszcze braku znajomości odpowiedniego postępowania chemicznego nie pozwala na definitywne ustalenie ich budowy. Według wspomnianych autorów kwasy huminowe są koloidowymi polikondensatami, które składają się z wielu cząstek (polionów). Każda wielocząsteczka (polion) składa się z pojedynczych cząsteczek (mononów), będących podstawowymi cegiełkami budowy, w tych ostatnich z kolei rozróżniają zasad-

nicze mikroelementarne jednostki (Mikrobaustein). Ta stojąca na najniższym stopniu jednostka (Mikrobaustein) według autorów ma się składać a) z jądra, b) mostku i c) grup czynnych. Jądro tworzy właściwy rdzeń elementarnej jednostki, na którym znajdują się grupy czynne OH. Poszczególne jądra wiążą się ze sobą poprzez mostek na przykład tlenowy (—O—). Najprostszy schemat budowy elementarnej jednostki będzie wyglądać następująco:



Około 10 takich mikroelementarnych jednostek połączonych ze sobą tworzy micellę — monon.

Ad a) Jako jądra elementarnych mikrocząsteczek mogą występować proste 5-cio, 6-cio węglowe lub skondensowane pierścienie jak benzen, naftalen, antracen, pyrol, furan, tiofen, pirydyna, indol bądź też cykliczne połączenia benzopochodne.

Ad b) Mostki łączące poszczególne jądra w micellach mogą stanowić ugrupowania typu: —O—, —NH—, $—CH_2—$ lub —S—.

Ad c) Grupy czynne jak OH, znajdujące się na rdzeniu, są odpowiedzialne za kwasowość (łącznie z grupami COOH), hydrofilność, charakter garbnikowy i za wymianę zasad. Grupy dowolne jak COOH, CH_3, $— SO_3H$, $—PO_3H_2$, $— OCH_3$, $—NH_2$, $—CH_2—$ lub —S— mogą występować w dowolnych ilościach przy rdzeniu bądź też wchodzić w miejsce grup OH wpływając na własności i zachowanie się kwasów huminowych. Zalicza się je do grup czynnych. W myśl takiego założenia budowy kwasów huminowych można je zdefiniować jako spolimeryzowane polifenole o systemie pierścieniowym benzolowym i o ciężarze micelarnym około 1000. Ta definicja odnosi się różnież do kwasów hymatomelanowych i fulwokwasów z tym, że ciężar micelarny spada w kierunku: kwasy huminowe → kwasy hymatomelanowe → fulwokwasy. Wszystkie wymienione kwasy jak i huminy są zbudowane z tej samej elementarnej mikrojednostki. W naturze może występować mieszanina tych spolimeryzowanych homologów zbudowanych niejednokrotnie z różnych jednostek mikroelementarnych w zależności od warunków środowiskowych i przebiegu procesu humifikacji oraz dalszego zwęglania.

Wyżej przedstawiony schemat budowy związków próchnicznych był dla autorów cytowanej pracy, jak też i wielu innych, hipotezą roboczą.

Stworzenie takiej hipotezy opierało się na stosunkowo bogatym materiale badawczym, dotychczas nie wykorzystanym dla postawienia jakiejś zasadniczej koncepcji odnośnie budowy związków próchnicznych.

Thiele i Kettner dla udowodnienia swojej tezy widzieli dwie drogi, a mianowicie albo oprzeć się na analizie naturalnych kwasów próchnicznych, albo na sztucznie otrzymanych preparatach. Autorzy obrali drugą drogę zarówno z uwagi na znajomość materiałów wyjściowych, jak i na możliwość pełnego kontrolowania i kierowania zespołem warunków i czynników przy otrzymywaniu różnych preparatów. Kierując się tymi wytycznymi, a przede wszystkim możliwością dużej rozmaitości jąder, autorzy w preparatyce sztucznych związków próchnicznych zastosowali około 20 różnych związków organicznych z uwzględnieniem substancji ubocznych mających wywierać decydujący wpływ na rodzaj mostka.

Otrzymane syntetyczne, jak również naturalne związki próchniczne przy pomocy jednakowej techniki izolacji i oczyszczania zostały przygotowane do porównania pod względem następujących właściwości: a) składu elementarnego, b) czynnych grup kwasowych określanych metodą elektromiareczkowania, c) wymienności jonów, d) koagulacji, e) peptyzacji, f) rodzaju i ilości związanego azotu, g) obrazów rentgenograficznych.

Na podstawie materiałów własnych i zestawionych z literatury autorzy w końcowej części pracy w rozważaniach nad konstytucją związków próchnicznych poddali dyskusji następujące zagadnienia:

1. Czy jednostka podstawowa (Grundbaustein) składa się z 6-cio czy też z 5-członowego pierścienia oraz czy inne pierścienie mogą również wchodzić w skład kwasów huminowych?

2. Czy pierścienie są homo-(carbo), czy też heterocykliczne?

3. Czy jednostki podstawowe mają charakter chinoidowy, czy też benzoidowy?

4. Czy pierścienie są związane bezpośrednio, czy też poprzez mostki?

5. Jak są wbudowane grupy OH i jak wpływają one na właściwości kwasów huminowych?

6. Skąd pochodzi kwasowy charakter kwasów huminowych, czy od grup OH, czy też COOH, lub też innych możliwych grup $—SO_3H$, $—PO_3H_2$?

Ad 1. Liczne badania dotyczące budowy podstawowej jednostki do dzisiaj nie dały ostatecznego rozstrzygnięcia. Najpierw dyskusje toczyły się głównie nad możliwością istnienia pierścienia 6-cio lub 5-cio członowego. Za poglądem dotyczącym istnienia pierścienia sześciowęglowego wypowiadali się: P. Ehrenberg, Albrecht i Malkomesy, Schwalbe, W. Eller, F. Fischer i H. Schrader i H. Erdtman. Na poparcie swego twierdzenia przytaczają oni następujące fakty: a) możliwość syntezy kwasów huminowych z fenoli i polifenoli, b) powstawanie benzokarbonowych kwasów w wyniku autooksydacji naturalnych

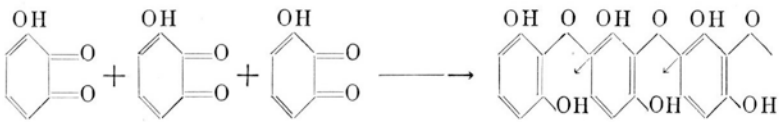
i fenolowych kwasów huminowych pod ciśnieniem, c) tworzenie się z chlorem tetra-chloro-p-benzochinonu.

Za możliwością istnienia pięcioczłonowego heterocyklicznego pierścienia furanowego opowiadają się K. G. Jonas, J. Marcusson, uzasadniając swoje twierdzenie a) możliwością syntezy kwasów huminowych z furanu oraz b) powstawaniem kwasów furanokarbonowych w wyniku oksydacji ciśnieniowej kwasów huminowych otrzymanych z cukrów lub furanu.

Rozpatrując substancje, z których mogą powstawać kwasy huminowe, stwierdzić trzeba, że z wyjątkiem cukrów wszystkie mają mniej lub więcej charakter aromatyczny. Węglowodany jednakże mogą również występować jako związki cykliczne, a tym samym wykazywać charakter aromatyczny. Istnieją również liczne przykłady tworzenia się pochodnych furanu z pentoz i heksoz. Reasumując Thiele i Kettner stwierdzają, że w skład budowy elementarnej cząstki kwasów huminowych mogą wchodzić różnego rodzaju związki pierścieniowe typu benzenu, naftalenu, antracenu, furanu, pirolu, indolu oraz szereg innych połączeń. Na podstawie tych rozważań Thiele i Kettner dochodzą do wniosku, że w przyrodzie mogą występować wszystkie otrzymane przez nich syntetyczne kwasy huminowe. Jeżeli ich nie wykrywamy, to jest to wynikiem niewystarczającej ilości odpowiednich substancji wyjściowych, względnie nieodpowiednich warunków środowiska.

Ad 2. Z badań autorów nie ulega wątpliwości, że jądro kwasów huminowych może być zarówno homo-, jak i heterocykliczne. W pierścieniu heterocyklicznym 5-cio lub 6-cio członowym mogą być wbudowane: azot, tlen, a nawet siarka.

Ad 3. Na pytanie czy kwasy huminowe posiadają strukturę benzoidową, czy chinoidową, trudno w tej chwili dać definitywną odpowiedź, ponieważ dotychczasowe badania nie dały pewnych wyników. Zdaniem autorów jednostki podstawowe (Grundbaustein) są polioksy związkami najczęściej o benzoidowym systemie pierścieniowym. Powstają one z oksychinonów albo polifenoli przy przekształcaniu struktury chinoidowej w benzoidową, co może nastąpić na skutek przemieszczenia się jednego atomu wodoru.



Najprawdopodobniej tworzy się podwójny mostek.

Te spolimeryzowane związki przy zachowaniu wiązania reagują jak pochodne benzolu. Po naruszeniu wiązań tworzą się oksychinony i jako takie mogą reagować. Należy przyjąć, że zmiana barwy przy redukcji według Zetzsche i Reinhardta jest wynikiem rozerwania wiązania i tworzenia się z powrotem oksychinonu.

Ad 4. Jednostki podstawowe, jak już wspomniano, mogą być również skondensowanymi pierścieniami heterocyklicznymi. Są one związane mostkami typu: $—CH_2$, $—CH_2CH_2—$, $=CH—$, $—O—$, $NH—$, $=N—$, $—S—$. Wiązanie mostkowe jest wiązaniem homeopolarnym za pomocą wartościowości głównych. Dlatego nie może ono być rozluźnione ani przy pomocy czystych organicznych rozpuszczalników, jak CS_2, benzolu, chloroformu albo pentanu, ani przez substancje ciekłe posiadające wysoką stałą dielektryczną, jak H_2O, NH_3, SO_2, kwas mrówkowy lub mlekowy.

Ad 5 i 6. Kwasy huminowe posiadają jedną lub więcej grup fenolowych OH związanych z jądrem. Im też należy przypisywać charakter kwasowy kwasów huminowych dzięki odczepianiu jonów wodorowych w roztworach wodnych. Niektórzy autorzy utrzymują, że kwasowe właściwości kwasów huminowych wiążą się z obecnością grup COOH. Przypuszczenie to stoi w sprzeczności z syntezą kwasów huminowych z oksychinonu powstającego na skutek hydrolizy, w wyniku której nie ma warunków powstawania grup COOH. Grupy COOH mogą, ale nie muszą występować w naturalnych kwasach huminowych i przez to wzmacniać kwasowe własności grup fenolowych OH. Obecność grup OH w kwasach huminowych może być wykryta w następujący sposób:

a. przez metylowanie i acetylowanie,

b. przez sprzężenie z dwuazoniowymi solami z powstaniem barwników azowych,

c. przez właściwości kwasowe i wymianę jonów,

d. przez hydrofilność.

Grupy hydroksylowe związane z jądrem określają właściwości kwasów huminowych jak:

a. charakter garbnikowy, wykrywany przez strącalność żelatyny z 1%-ego roztworu,

b. właściwości kwasowe grup, dające się określić przez pomiar przewodnictwa, elektromiareczkowanie i elektroforezę. Kwasy huminowe odczepiają w roztworach wodnych jony H^+ i są zdolne tworzyć sole z kationami.

c. zdolność wymienna kationów kwasów huminowych waha się w granicach od 2—5 milirównoważników na 1 g kwasów huminowych. Wartość pH kwasów huminowych waha się między 3,5—4,2. Zakwaszenie roztworu humianów metali alkalicznych poniżej pH 3,5 powoduje wytrącanie kwasów huminowych.

Pracy Thiele i Kettnera poświęcono w niniejszym referacie szczególnie dużo uwagi, ponieważ jest to jedyna w swoim rodzaju praca bardzo wnikliwie i szeroko rozpatrująca problem budowy chemicznej związków próchnicznych. Inne badania, zwłaszcza nowsze, dotyczą głównie fizykochemicznej charakterystyki kwasów huminowych różnego pochodzenia, z wyjątkiem niektórych prac Flaiga o charakterze czysto chemi-

cznym. Tak więc na pierwszym miejscu należy tu podkreślić szeroko zakrojone badania W. Flaiga i współpracowinków z Instytutu Biochemii Gleby w Brunszwiku, prace F. Scheffera i E. Welte z Gettyngi opublikowane w ostatnich paru latach. Poza dużą różnorodnością prac dotyczących zagadnienia próchnicznego W. Flaig i współpracownicy zajmowali się między innymi modelowymi substancjami próchnicznymi otrzymywanymi z chinonu lub z jego pochodnych. Autorzy ci stwierdzają podobieństwo reakcji kwasów huminowych naturalnych i syntetycznych. Jednakże wyjaśnienie budowy naturalnych kwasów huminowych napotyka duże trudności, ponieważ są one zwykle zbudowane z podstawowych jednostek (monomerów) o zróżnicowanym pochodzeniu chemicznym przy jednoczesnym podobieństwie właściwości fizykochemicznych. Poza tym oddzielenie kwasów huminowych od towarzyszących im substancji mineralnych bez naruszenia ich struktury wydaje się niemożliwe. Stąd też syntetyczne kwasy huminowe zbudowane z tego samego rodzaju jednostek są dogodniejsze do badań — nie są one jednak jednolitymi związkami. Uzyskane na tej drodze kwasy huminowe można rozdzielić elektroforetycznie na trzy frakcje. Syntetyczne kwasy huminowe zbudowane z wielofenoli są związkami rentgenoamorficznymi. Ich przeciętny ciężar molekularny waha się w granicach od 600—1000. Tworzą one z wielowartościowymi kationami trudno rozpuszczalne sole (humiany). Przy tworzeniu soli wchodzą w rachubę również grupy OH. Ciężar równoważnikowy humianów baru wynosi około 124. Podczas autooksydacji i równocześnie przebiegającej polikondensacji powstają pęknięcia pierścieni i wyzwalają się produkty rozszczepienia jak CO_2, kwas szczawiowy, a także w nieznacznych ilościach kwas octowy. Flaig i współpracownicy postulują włączenie kwasów huminowych do typowych ciał semimakromolekularnych o ciężarze cząsteczkowym od 500—1000.

Zagadnieniem budowy i powstawaniem związków próchnicznych zajmowało się poza tym szereg innych badaczy. I tak na przykład Dragunow (1948) na podstawie wyników własnych badań odnoszących się do składu chemicznego, grup funkcjonalnych, ilości hydrolizujących i niehydrolizujących połączeń azotowych, ilości substancji redukujących oraz budowy jądra aromatycznego podał schemat budowy kwasów huminowych czarnoziemów. Autor wyraził pogląd, że w budowie kwasów huminowych biorą udział nie tylko związki aromatyczne (pochodzenia ligninowego i nieligninowego), ale również substancje zawierające azot oraz substancje redukujące, których źródłem jest plazma drobnoustrojów. Podobny pogląd na syntezę związków humusowych wyraża M. M. Kononowa. Według niej związki próchniczne mogą tworzyć się nie tylko z lignin, co uprzednio postulowali niektórzy autorzy, ale również z różnych innych składników roślin. Autorka uważa, że synteza jednostek elementarnych budowy kwasów huminowych dokonuje się na drodze kondensacji polifenoli z aminokwasami

lub peptydami. Reakcje zachodzące w tym procesie są reakcjami enzymatycznymi. Poważny udział w nich należy przypisać oksydazom fenolowym.

W uzupełnieniu mego referatu pragnąłbym zwrócić uwagę na kształtowanie się poglądu na istnienie różnych frakcji związków próchnicznych omówionych już poprzednio. Otóż począwszy od Sven Odena przez długi okres czasu utrzymywał się pogląd klasycznego podziału połączeń próchnicznych na odrębne związki chemiczne. Ostatnio H. E. Freytag na podstawie badań spektrofotometrycznych stwierdził, że różnice między poszczególnymi frakcjami próchnicznymi dotyczą stopnia kondensacji i ich stanu koloidalnego. Ponadto Freytag zaobserwował zjawisko przechodzenia jednej frakcji w drugą na drodze fizykochemicznej. Kasatoczkin i Zillbrand na podstawie badań widma absorbcyjnego kwasów huminowych i fulwokwasów potwierdzili podobny schemat ich budowy. U nas w kraju podobne badania prowadzą W. Misterski i W. Łoginow. Autorzy na podstawie dotychczasowych wyników stwierdzają dużą labilność między poszczególnymi frakcjami i uważają, że całość związków próchnicznych należy traktować jako ciągłą mieszaninę.

Poza czysto chemicznym i fizykochemicznym kierunkiem badań, które wyżej opisałem, w nowszej literaturze spotyka się wiele prac poświęconych charakterystyce rodzimych, surowych związków próchnicznych, otrzymanych z różnych materiałów wyjściowych i porównywanych z humusem torfu lub humusem czarnoziemów. Tak na przykład U. Springer charakteryzuje pod względem wielu właściwości (% C, % H, ilość grup OH, COOH, CH_3O i in.) związki humusowe otrzymane z różnych kompostów. W badaniach autora okazało się, że w zależności od materiału wyjściowego istnieją wyraźne różnice w procentowej zawartości charakterystycznych grup. Springer sugeruje dalej, że te procentowe różnice są rezultatem nie tylko chemicznego charakteru materiału, lecz wynikają również z ilości i typu czynnych mikroorganizmów oraz innych czynników środowiska, w którym rozkład się dokonuje. Ponadto Springer podaje w swej pracy, że struktura kwasów huminowych jest wybitnie uzależniona od stosowanej metody ekstrakcji i oczyszczania.

Interesujące są również badania dotyczące substancji niehumusowych luźno związanych z właściwymi kwasami huminowymi. Substancje te, natury nieorganicznej i organicznej, występują w różnych ilościach i rodzajach. Chodzi tu o takie związki nieorganiczne jak: Al_2O_3, Fe_2O_3, CaO, P_2O_5 oraz organiczne jak: kwasy poliuronowe, flobafeny, kompleksy białkowo-garbnikowe, a w szczególności białka. Obecność tych substancji w kwasach huminowych wzmaga trwałość ich stanu koloidalnego. Zagadnienie powyższe, dotyczące substancji towarzyszących i ich sposobu powiązania z kwasami huminowymi, będzie szerzej rozpatrzone w innym referacie.

Na zakończenie chciałbym zaznaczyć, że w powyższym referacie cho-

dziło mi głównie o przedstawienie zasadniczych kierunków badań, zmierzających do wyjaśnienia struktury chemicznej związków próchnicznych. W związku z tym nie przytaczałem różnych hipotetycznych, a nieraz może wyraźnie spekulatywnych schematów dotyczących budowy związków próchnicznych. Jak można zorientować się z całości referatu, zadanie określenia struktury tych niezwykle skomplikowanych związków nie jest łatwe. Niemniej jednak trzeba stwierdzić, że w ostatnich latach poczyniono duże postępy i sądzić można, że ciągłe i systematyczne badania przyniosą dalsze wyjaśnienia dotyczące chemii humusu, a tym samym przyczynią się w dużym stopniu do wytłumaczenia wpływu próchnicy na glebę i roślinę.

ZUSAMMENFASSUNG

Das Referat ist auf Grund der Litteraturangaben, die sich auf den Chemismus der Humussubstanz beziehen, verfasst worden. Die Einleitung gibt eine historische Beschreibung der Methoden und der Extraktionsmittel, sowie der Art und Weise der Reinigung der Humussubstanz wieder, welche aus verschiedenen Quellen (Torf, Kompost, Böden) stammen.

Die am meinsten angewandten Mittel zur Extraktion der Humussubstanz waren anfangs die verdünnten Lösungen verschiedener Alkalien wie NaOH, Na_2CO_3, Ammoniak.

Mit Hilfe der alkalischen Lösungen, in denen sich gewisse Gruppen der Humusverbindungen lösen, und bei Anwendung verdunnter Säuren, die gewisse Verbindungen niederschlagen, konnten die einzelnen Fraktionen getrennt werden. Im weiteren Lauf der Untersuchungen konnte festgestellt werden, dass die alkalische Mitteln der Struktur der Humussubstanzen angreifen. Es wurden daher gelindere Extraktionsmittel wie Natriumfluorid, Na-oxalat, Natriumcitrat, Natriumpyrophosphat angewandt.

Dabei ist hervorzuheben, dass bei der einleitenden Untersuchung Bromacetyl angewandt wird, in denem sich die nicht humifizierten Substanzen lösen. Die jetzt verbesserten Extraktionsmethoden führen zu folgender vereinbarten Aufteilung der Humusverbindungen:

I. Die Humussäuren in freier und gebundenner Form
   1. Die Huminsäuren
      a) die eigentlichen dunklen Huminsäuren
      b) die braunen Huminsäuren u. die Ulminsäuren
   2. Die Fulvosäuren
      a) Krensäuren
      b) Apokrensäuren

II. Die Huminstoffe

Die erwähnten Gruppen der Humusverbindungen wurden im weiteren Verlauf des Referates mit Rücksicht auf die Dispersionsstufen Kondensa-

tion, Polymerisation, Farbe, sowie auf den Unterschied der auftretenden Gruppen und Radikale charakterisiert.

Die physikalische sowie die physikalisch-chemische Charakteristik der einzelnen Gruppen der Humusverbindungen führte zur These, dass die Unterschiede zwischen den einzelnen Fraktionen nur die Stufe der Kondensation (nach E l l e r sowie später E n d e r s) betreffen. Etwas eingehender wurden im Referate die Modell — Huminsäuren behandelt, die Eller aus den Polyphenolen erhielt, sowie die Huminsäuren, die Enders aus Methylglioksal erhielte.

Im weitere Verlauf des Referates wurde eingehend die Arbeit von Thiele u. Kettner besprochen. Es ist der die wichtigste Arbeit vom analytischen Charakter, die sich lediglich auf den Chemismus der Humussubstanz bezieht. Wie T h i e l e und K e t t n e r feststellen, die Huminsäuren sind polymere kolloide Substanzen, die sich aus Polyonen zusammensetzen; die Polyonen wiederum aus Mononen (Grundbausteinen) und diese aus den Mikrobausteinen. Die Mikrobausteinen bestehen aus dem Kern, den Brücken und den reaktiven Gruppen. Die Kerne mögen sich aus aromatischen Hexa-bezw. Penta oder kondensierten Ringen (Naphtalen, Anthrazen) oder heterozyklischen Ringen zusammensetzen (Pyrol, Furan, Triophen usw.). Die Brücken werden durch —O—, —NH—, —CH_2—, oder —S— gebildet. Die reaktiven Gruppen, wie OH, befinden sich am Kern und bewirken die Azidität, den hydrophilen Charakter, den Gerbstoffcharakter und den Basenaustausch.

Die Fakultative Gruppe wie COOH, CH_3 —OCH_3—, —NH—, —CH_2— oder —S— wirken in erheblichem Masse auf die Eigenschaften der Humussubstanzen. Die Autoren ausgehend von dem allgemein anerkennten Aufbau der Huminsäuren, geben die Beweise für einen solchen Strukturaufbau, wobei verschiedenes Ausgangsmaterial verwandt wurde.

T h i e l e und K e t t n e r haben auf Grund eines umfangreichen analytischen Materials alle bisheringen aufgestellten Theorien des Aufbaues der Huminsäuren einer eingehenden Kritik unterzogen und stellten auf Grund eigener Untersuchungen die Anträge ein.

Auf Grund der Ansicht der erwähnten Forscher können die Humussäuren unter natürlichen Bedingungen aus verschiedenen Ausgangsprodukten entstehen.

Das Fehlen unter natürlichen Bedingungen eines bestimmten Typus von Huminsäuren aus einer bestimmten Ausgangssubstanz ausgebauenden, erklären die Autoren durch die niedrige Konzentration oder durch das Fehlen dieser Verbingung im Milieu.

Die Natürlichen Huminsäuren sind grundsätzlich eine Mischung von Huminsäuren von sehr ähnlichen physischen und physikalisch-chemischen Eigenschaften, und die geringen Unterschiede im Bau und Zusammensetzung

sind durch das verschiedene Ausgangsmaterial zu erklären. Es können daher die Modellsubstanzen, die in hohen Masse dazu beitrugen, den schematischen Bau der Humussäuren aufzustellen, dennoch nie dem wirklichen natürlichen Aufbau der Huminstoffe entsprechen. Auf Grund der Untersuchungen der Autoren, scheint es keinem Zweifel zu unterliegen, dass die Huminsäure einen chinoidbenzoiden Aufbau mit entsprechenden Brückenverbindungen und reaktiven oben erwähnten Gruppen besitzen.

In dem abschliessenden Teil des Referates wird auf die neuesten Untersuchungen von Flaig, Ploetz, Nehring u.a. eingegangen, welche sich besonders auf die Modell- Humussäuren beziehen, für denen verschiedene Chinone und ihre Derivate als die Ausgansprodukte angewandt wurden.

Am Schlusse des Referates werden wichtige und für viele Forscher interessanten Fragen bezüglich des Aufbaues der natürlichen Humussäuren erörtet.

Jetzt wird es festgestellt, dass mit dem Molekül der Humussäure lose verschiedene anorganische und organische Komplekse verbunden sein können, welche man durch gelinde Reaktionen von der eigentlichen Huminsubstanz trennen kann, wenn nicht etwa verschiedene anorganiache Elemente der Kernsubstanz anverleibt sind (N, O, S).

Das Referat bezieht sich auf den Stand des Chemismus der Humussubstanz, auf die grundsätzlichen Richtungen der Untersuchungen und Fortschritte, abgesehen von spekulativen Erwägungen mancher Forscher.

LITERATURA

1. Aleksandrowa N. 1949, Humus kak sistiema polimiernych sojedinienij, Izdat. Akad. Nauk SSSR.
2. Bremmer J. M., 1951, 1954, A review of recent work on soil organic matter I i II. J. Soil Sci 2, 67 (1951), 5, 214 (1954).
3. Dragunow S. S., Zełochcewa N. N., Striełkowa E. J., 1950, Issledowanije chemiczeskoj prirody guminowych kisłot, Poczwowied. 3, 151.
4. Eller W., Koch K., 1920, Synthetische Darstellung von Huminsäuren, Ber. 7, 17.
5. Enders C., 1943, Über den Chemismus der Huminsäurebildung unter physiologischen Bedingungen, Biochem. Z. 313, 352.
6. Flaig W., 1955, Chinone als Modellsubstanzen von Huminsäurevorstuffen, Z. Pflanzenernähr. Düng. Bodenkde 69, 43.
7. Flaig W., Scheffer F., Klamroth B., 1955, Zur Charakterisierung der Huminsäuren des Bodens, Z. Pflanzenernähr. Düng. Bodenkde 71, 33.
8. Flaig W. Breyhan Th., 1956, Über die Vorkommen von Indolverbindungen in Schwarzerde-Huminsäure, Z. Pflanzenernähr. Düng. Bodenkde 75, 132.
9. Forsyth W., 1947, Studies of the more soluble complexes of soil organic matter, J. Biochem. 41.
10. Frömel W., 1937, Über die Absorptionspektren von Huminsäure in Lösungen, Z. Pflanzenernähr. Düng. Bodenkde 6.

11. Freytag H. E., 1956, Absorptionsphotometrische Änderungen der Huminstoffe im Verlaufe des Wurzelabbaues. Z. Pflanzenernähr, Düng. Bodenkde 72, 231.
12. Fuchs W., 1931, Die Chemie der Kohle. Berlin.
13. Gillam S., 1940, A Study of the chemical nature of humic acid Soil Science 49 (6).
14. Kononowa M. M. 1951, Problema poczwiennogo gumiesa i sowriemiennyje zadaczi jego izuczenia. Izdatielstwo Akad. Nauk SSSR.
15. Kononowa M., 1956, Gumus gławniejszich tipow poczw SSSR jewo priroda i puti obrazowania, Poczwowied. 3, 18.
16. Kononowa M. M. 1949, O biochimizmie processa obrazowanija guminowych kisłot. Mikrobiołogija 18 (2).
17. Kubiena W. L. 1955, Die Bedeutung des Begriffes ,,Humus form'' für die Bodenkunde u. Humusforschung, Z. Pflanzenernähr. Düng. Bodenkde 69, 3.
18. Laatsch W., 1954, Dynamik der Deütschen Acker u. Waldböden. Dresden Leipzig.
19. Oden Sven, 1922, Die Huminsäuren — Dresden u. Leipzig.
20. Simon K., 1921, Über die Herstellung von Humusextrakten mit neutralen Mitteln, Z. Pflanzenernähr. Düng. Bodenkde 14, 252.
21. Schaffer F. Welte E., Ziechmann W., 1955, Über Untersuchungen an Künstlichen Huminsäure, Z. Pflanzenernähr. Düng. Bodenkde 69, 58.
22. Schaffer F., Ziechmann W., Schlüter H., 1955, Die Papierelektrophorese als Möglichkeit der Auftrenung von Huminsäuren. Z. Pflanzenernähr. Düng. Bodenkde 70, 260.
23. Springer U., 1938, Der heütige Stand der Humusuntersuchungsmethoden, Z. Pflanzenernähr. Düng. Bodenkde 6 (51): 312.
24. Thiele. H. Kettner H., 1953, Über Huminsäuren, Kolloid. Z. 130 (3): 131.
25. Tiurin I. W., 1940, K woprosu o prirodie fulwokisłot poczwiennogo gumusa, Tr. Poczw. In-ta im. W. Dokuczajewa 23.
26. Tiurin I. W., 1937, Organiczeskoje wieszczestwo poczw Sjelchozgiz, Leningrad.
27. Welte E., 1952, Über die Entstehung von Huminsäuren und Wege ihrer Reindarstellung, Z. Pflanzenernähr. Düng. Bodenkde 56, 105.
28. Welte E., 1955, Neure Ergebnisse der Humusforschung, Angew. Chem. 67, 153 (1955).
29. Zetsche F. Reinhard H., 1939, Beiträge zur Reduktion der Huminsäure. Bremstoffchemie 20 (5).
30. Springer U., 1955, Über Komposthuminsäuren aus verschiedenen pflanzlichen Ausgangsstoffen, Z. Pflanzenernähr. Düng. Bodenkde 69, 66.