ACTA AGROBOTANICA
VOL. IX, nr 1 — 1960

Przyczynki do wyjaśnienia charakteru aktywności katalatycznej borowin

Ein Beitrag zur Erklärung der Beschaffenheit der katalatischen Aktivität der Peloide

VĚRA POKORNÁ

WSTĘP

Ustalanie aktywności katalatycznej, czyli zdolności rozkładania nadtlenku wodoru na wodę i tlen cząsteczkowy, stanowi obecnie często stosowaną w gleboznawstwie metodę charakteryzacji gleby. Katalatyczna aktywność ziemi jest ogólnym miernikiem aktywności katalazowej, a tym samym również mikrobiologicznej i roślinnej, reakcji środowiska, substancji próchnicznych, substancji działających redukcyjnie lub katalitycznie i substancji o aktywności powierzchniowej.

Nie udało się dotychczas wyodrębnić z tego kompleksu poszczególnych czynników i stwierdzić, jaki udział one biorą w ostatecznych wynikach aktywności katalatycznej w różnych glebach. Dlatego też różni autorzy prac, mających na celu wyjaśnienie tego zjawiska, przeważnie albo przeceniali, albo też nie doceniali niektórych czynników w zależności od swych własnych poglądów na glebę lub od ówczesnego stanu wiedzy w tej dziedzinie. Początkowo przeceniano znaczenie bakterii jako głównych elementów biorących udział w katalatycznym rozkładzie nadtlenku wodoru (Koenig, Coppenrath, Hasenbäumer, cyt. wg Káša 1926), później przypisywano przeważnie największą rolę czynnikom fizycznym i chemicznym (Scharrer 1936, Káš 1948), a w pracy Seiferta (1956) podkreślana jest znów przewaga działania mikrobiologicznego, głównie w poziomach wierzchnich. W humolitach dochodzą jeszcze do tego własności roślin w różnym stopniu humifikacji.

W mej pracy badałam katalatyczną aktywność borowiny. Starałam się wyeliminować poszczególne składniki i czynniki, wywołujące katalatyczną aktywność lub wywierające na nią wpływ, i specjalnie śledziłam przejawy tego wpływu. Na podstawie wyników badań starałam się określić charakter aktywności katalatycznej w różnych rodzajach borowiny.

MATERIAŁ DOŚWIADCZALNY I METODY

Jako materiał doświadczalny służyły mi: 1. torfowiec *Sphagnum palustre* (V. Ježek det) w różnych stopniach humifikacji z miejscowości Soos (Hájek) koło m. Františkovy Lázně, 2. czyste kultury torfowców *Sphagnum palustre*, *Sphagnum molluscum*, *Sphagnum amblyphyllum* na pożywce agarowej z zawartością NH_4NO_3, KH_2PO_4, $MgSO_4$, $CaCl_2$, $FeCl_3$ ze zbioru kultur autotroficznych organizmów Czechosłowackiej Akademii Nauk, 3. torf wysoki z Soosu z głębokości 50 do 100 cm, próbki z profilu torfów wysokich z m. Malá Jizerka koło Libverdy, 5. próbki z profilu torfów niskich z przerostem ochrowym w II próbce ze złóż koło Kundratic p. Ještědem, 6. próbki z profilu torfów niskich z Kořenova, 7. torfy niskie z m. Františkovy Lázně, siarkowo-żelaziste, z głębokości 20 do 100 cm, 8. kredowe torfy niskie z Velichovek, 9. bagno z Pieštan z basenu, gdzie dojrzewa.

Próby borowiny, przeznaczone do doświadczeń, zmielone maszynką do mielenia mięsa (aby masa była homogeniczna), przechowywano w zamkniętych słojach patentowych. Własności materiału wykazane zostały na podstawie analizy mikroskopowej oraz chemicznej metodą Benadego z wprowadzonymi zmianami przez B r o ž k a (7). Tabele 1 i 2 podają wyniki analizy chemicznej torfów wysokich z Soosu, dla których dokładnie opracowana została strona metodyczna.

TABELA 1

Skład chemiczny torfu wysokiego z Soosu

W % suchej masy torfowej		W % części organ. suchej masy torfowej
Woda w próbce naturalnej (przez wysuszenie przy 105°C	79,52	
Substancje nieorganiczne	6,53	
Substancje organiczne	93,47	
Azot ogółem	1,59	1,70
Azot niehydrolizowalny	0,62	0,73
Substancje rozpuszczalne w benzynie	8,27	8,85
Substancje rozpuszczalne w alkoholu	5,41	5,79
Substancje rozpuszczalne w wodzie	1,57	1,61
Substancje rozpuszczalne w 2% HCl	15,49	16,57
Substancje rozpuszczalne w 72% H_2SO_4	6,49	6,94
Kwasy humusowe	12,09	12,93
Fulwonowe kwasy	2,49	2,63
Huminy i resztki nierozpuszczalne	35,19	37,67

Podług analizy mikroskopowej torf wysoki z Soosu składa się głównie z włókien torfowca. Wyniki chemicznych i mikroskopowych analiz borowiny z m. Malá Jizerka, Kořenov i Kundratice p.J. zostały już opublikowane (Pokorná 1956).

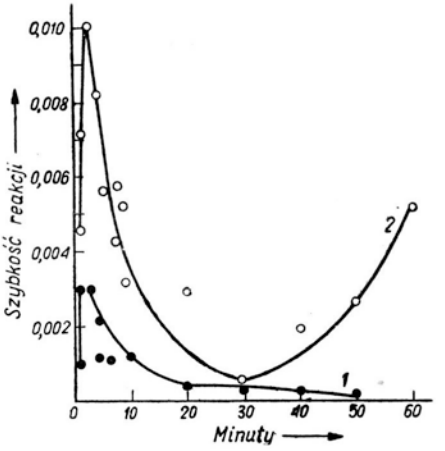
TABELA 2

Skład popiołu torfu wysokiego z Soosu
(w % popiołu)

SiO_2	50,54
R_2O_3	14,03
Fe_2O_3	4,01
CaO	20,83
MgO	3,87

Aktywność katalatyczna ustalona została wolumetrycznie katalazometrem wg Práta (1955).

Przedwstępne doświadczenia wykazały bezpośrednią zależność aktywności katalatycznej od ilości materiału. Okazało się, że najdogodniejsza waga próbki wynosi w naszym przypadku 2 g suchej masy. Odważano zawsze właśnie taką ilość i mieszano z taką samą ilością wody (zwykle ok. 50 ml), aby ostateczna koncentracja po dodaniu 6 ml 40% H_2O_2 wynosiła 4%. Podług doświadczeń kontrolnych koncentracja nadtlenku wodoru w granicach od 1 do 9% nie ma wpływu na wyniki. Za pomocą pipety napełniono nadtlenkiem krótką probówkę, którą wstawiono następnie do katalazometru i w zamkniętym zestawie katalazometr-eudiometr obrócono bezpośrednio przed wykonaniem pomiaru. Przebieg reakcji obserwowałam przy temperaturze laboratoryjnej przez 20 minut w 1-minutowych odstępach czasu, potem co 10 minut aż do 60 minut. Wyniki określone zostały w postaci średnich wartości szybkości reakcji z trzeciej i ósmej minuty oraz graficznie przyjmując za podstawę objętość tlenu uwolnionego z rozłożonego nadtlenku wodoru w zależności od czasu. Średnią wartość z trzeciej i ósmej minuty dla szybkości przebiegu reakcji wybrano z tego powodu, że na pierwszych 2 minutach ciążą zazwyczaj uchybienia metodyczne, a po dłuższym czasie działania nadtlenku wodoru następuje już uszkodzenie enzymu, względnie wzmożony nieenzy-



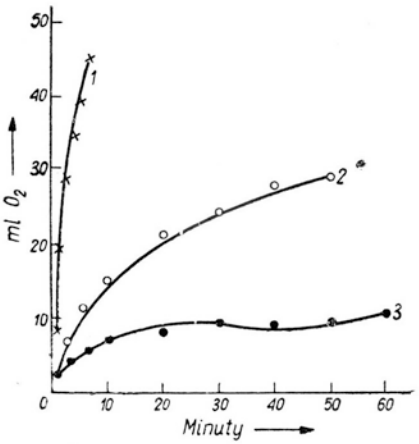
Ryc. 1. Szybkości reakcji torfu wysokiego z Soosu i torfu niskiego z ochrą z Kundratic; 1 — torf wysoki z Soosu; 2 — torf niski z Kundratic

matyczny rozkład nadtlenku wodoru, jak to wynika zresztą z graficznego obrazu szybkości przebiegu reakcji u torfu wysokiego z Soosu i II próbki z Kundratic p. J. (ryc. 1). Dla próbek, dla których szybkość przebiegu reakcji wzrasta wraz z czasem, odnośna wartość oznaczona jest gwiazdką. Można łatwo wykazać w wartościach przebiegu reakcji odchylenia na trzecim miejscu dziesiętnym.

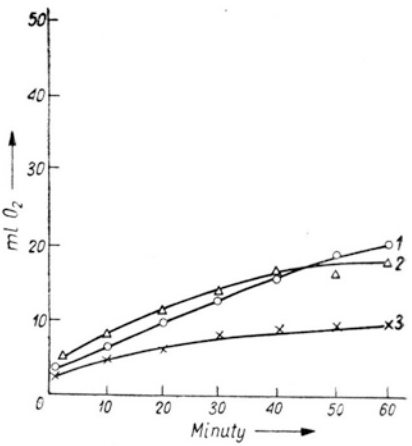
WYNIKI

Materiałem wyjściowym mych badań był roślinny materiał torfowca, stanowiący główny składnik torfu wysokiego. Śledziłam zmiany aktywności przy procesie odumierania i aktywność tworzącego się torfu wysokiego (ryc. 2). Wykres ten wykazuje stopniowe obniżanie się aktywności w odumierającym materiale. Najmniejszą aktywność widzimy w samym torfie wysokim.

W żywym materiale roślinnym istnieje prawdopodobnie aktywna katalaza. Ustaliłam też aktywność dla czystych kultur torfowca, aby stwier-



Ryc. 2. Aktywność katalatyczna torfowca *Sphagnum palustre* L.: 1 — zielonego; 2 — oburmałego i 3 — torfu wysokiego pod torfowcem



Ryc. 3. Wpływ wysuszenia na aktywność katalatyczną: 1 — torf wysoki o zawartości wody 90%; 2 — o zawartości wody 60%; 3 — o zawartości wody 12%

dzić, czy w tej aktywności nie biorą udziału mikroorganizmy, żyjące w torfowcu, rozwijającym się w warunkach naturalnych. Wyniki dowiodły, że w czystych kulturach w porównaniu z torfowcem rozwijającym się w warunkach naturalnych nie można wykazać mniejszej aktywności i że aktywność ta spowodowana jest głównie przez katalazę z torfowca.

Badając aktywność katalatyczną w torfie wysokim, przeprowadziłam dalsze doświadczenia z torfowcowym torfem wysokim z Soosu. Przede wszystkim należało zbadać, jak zmienia się aktywność katalatyczna w pobranej próbce w zależności od czasu i aktywność katalatyczna tej samej próbki w zależności od tego, w jakiej porze roku próbka była pobrana. W naszym przypadku pobieranie próbki w różnych porach roku (kwiecień, lipiec, sierpień, wrzesień, listopad) nie miało wpływu na wyniki aktywności katalatycznej. Czas magazynowania próbek (10 miesięcy) miał mały wpływ na wyniki aktywności katalatycznej, jeżeli przechowywane były w stanie zmielonym w patentowanych słojach o pojemności 1/2 kg przy temperaturze laboratoryjnej i jeżeli kolejno otwierano, w miarę potrzeby, jeden słoik patentowy po drugim.

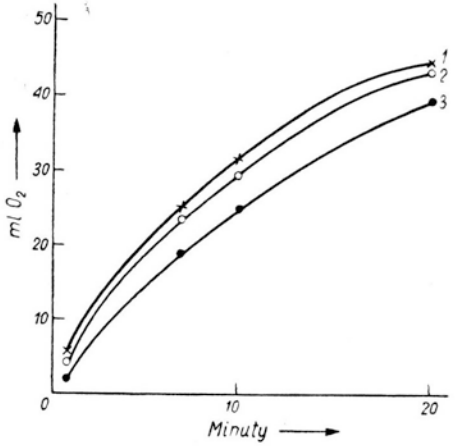
Jeżeli zaś próbki pobierane są z jednego słoja, każdorazowo w tym celu otwieranego, aktywność katalatyczna znacznie wzrasta — nawet czterokrotnie, jak widać z tabeli 3.

TABELA 3

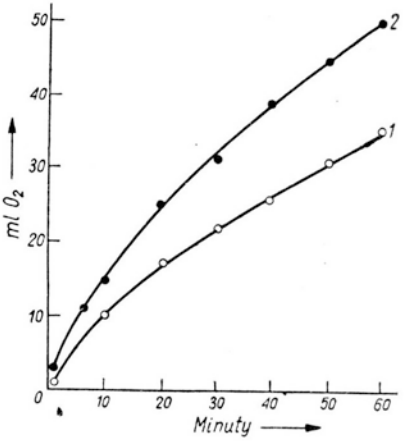
Wpływ przechowywania próbek przy dostępie powietrza na katalatyczną aktywność torfu wysokiego z Soosu

Czas przechowywania próbki	Szybkość reakcji
0	0,0005
1 miesiąc	0,0007
5 miesięcy	0,0016
10 miesięcy	0,0021

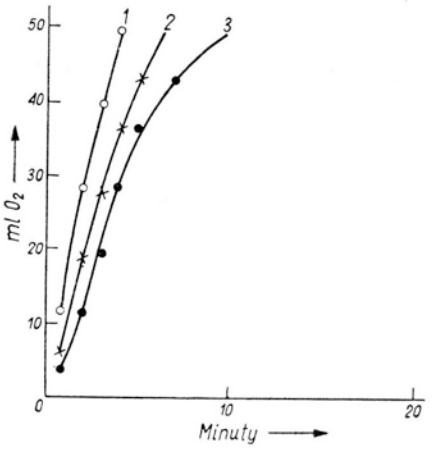
Wykres na ryc. 3 przedstawia wpływ wysuszania na wartość aktywności katalatycznej. Zawartość wody w torfie wysokim wynosi średnio 80%. Przy stopniowym wysuszaniu do 60% nie ujawnia się żadna zmiana w aktywności katalatycznej, zaś przy niższej zawartości wody niż 60% aktywność katalatyczna znacznie zmniejsza się, i to bezpowrotnie. Aktywność katalatyczna próbki suszonej na powietrzu i przesianej przez sito 0,2 mm wynosiła mniej więcej trzecią część pierwotnej wartości. Ani przez zastosowanie różnych środków zwilżających (alkohol, saponina, chloroform, palmitynian potasowy) nie udało się osiągnąć wartości próbki naturalnej. Podobne wyniki dawały proste torfy niskie. Doświadczenia kontrolne wykazały, że wymienione powierzchniowo aktywne materiały w zastosowanych koncentracjach — tzn. 10% C_2H_5OH, 0,4% saponina, 2,6% palmitynian potasowy, 10% chloroform — nie zmieniły aktywności. Zupełnie inaczej sprawa się przedstawia u kredowego torfu niskiego i bagna, gdzie suszenie na powietrzu podwyższa aktywność katalatyczną (ryc. 4, 5, 6).



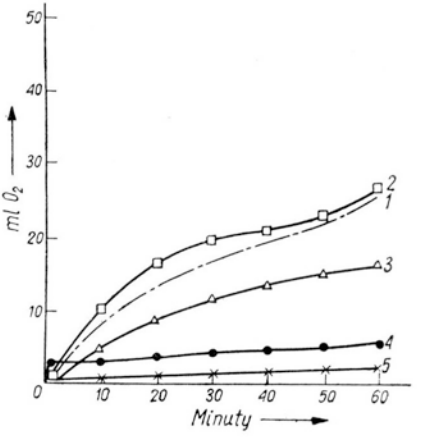
Ryc. 4. Aktywność katalatyczna kredowego torfu niskiego z Velichovek: 1 — próbka suszona na powietrzu; 2 — próbka z warunków naturalnych; 3 — próbka po zagotowaniu



Ryc. 5. Aktywność katalatyczna siarkowo-żelazistego torfu niskiego z miejscowości Františkovy Lázně: 1 — próbka z warunków naturalnych; 2 — ta sama próbka po 7 dniach przechowywania na powietrzu



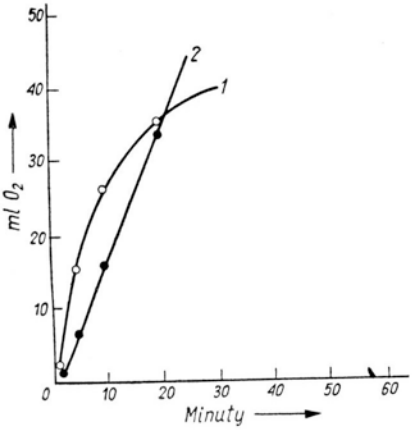
Ryc. 6. Aktywność katalatyczna bagna z Piešťan: 1 — próbka suszona na powietrzu; 2 — próbka z warunków naturalnych; 3 — próbka po zagotowaniu



Ryc. 7. Wpływ ogrzewania na aktywność katalatyczną: 1 — torf wysoki bez uprzedniego ogrzewania; 2 — torf wysoki po ogrzaniu do 48°C; 3 — torf wysoki po ogrzaniu do 50°C; 4 — torf wysoki po ogrzaniu do 80°C; 5 — torf wysoki po ogrzaniu do 100°C

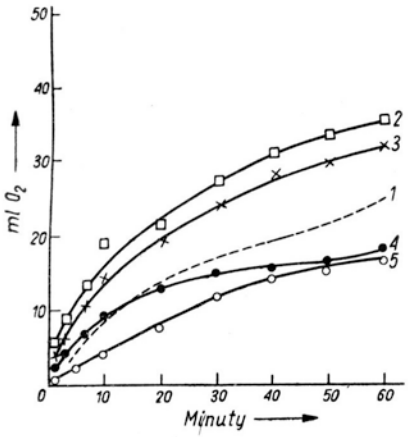
Ponieważ katalaza jest bardzo wrażliwa na temperaturę, inaktywizuje się w kwaśnym środowisku, jest hamowana solami ciężkich metali, błękićcami (cyanity), azydami itd., przeto badałam, jak czynniki te przejawiają się w wynikach aktywności katalatycznej torfu wysokiego.

Wpływ temperatury ilustruje ryc. 7. Torf wysoki wystawiony był na uziałanie wymienionych temperatur przez 2 godziny, po czym właściwe dstalanie wartości przeprowadzane było już przy temperaturze laborato-

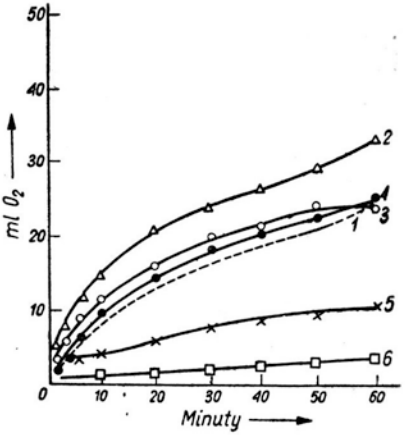


Ryc. 8. Wpływ gotowania na aktywność katalatyczną siarkowo-żelazistego torfu niskiego z miejsowości Františkovy Lázně: 1 — próbka z warunków naturalnych; 2 — próbka gotowana

ryjnej. Jak wynika z wykresu, od 50°C obniżenie dochodzi prawie że do połowy, a przy 80°C następuje prawie że zupełny zanik aktywności. Odmienne wyniki stwierdzone zostały przy badaniu bagna i kredowego torfu ni-



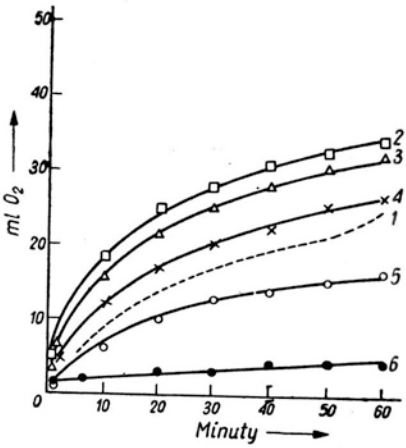
Ryc. 9. Wpływ różnych pH fosforanowych substancji buforowych na aktywność katalatyczną torfu wysokiego: 1 — sam torf wysoki; 2 — torf wysoki z substancją buforową pH = 7,3; 3 — torf wysoki z substancją buforową pH = 6,0; 4 — torf wysoki z substancją buforową pH = 5,0; 5 — torf wysoki z substancją buforową pH = 4,6



Ryc. 10. Wpływ różnych pH cytrynianowych substancji buforowych na katalatyczną aktywność torfu wysokiego: 1 — sam torf wysoki; 2 — torf wysoki z substancją buforową pH = 6,7; 3 — torf wysoki z substancją buforową pH = 6,2; 4 — torf wysoki z substancją buforową pH = 5,5; 5 — torf wysoki z substancją buforową pH = 4,4; 6 — torf wysoki z substancją buforową pH = 2,6

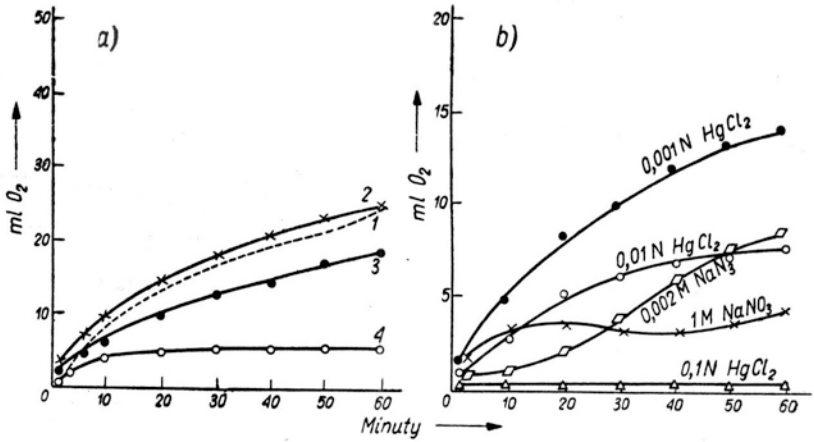
skiego (ryc. 4, 6), gdzie gotowanie nieznacznie tylko obniżyło aktywność katalatyczną. Aktywność katalatyczna nie obniżyła się przez gotowanie próbki siarkowo-żelazistego torfu niskiego, krzywa ma inny charakter, a szybkość reakcji wzrasta wraz z czasem (ryc. 8).

Prócz wysokich temperatur poddawałam torf wysoki również niskim temperaturom przez 3 godziny przy — 14°C i —3°C. Po rozmarznięciu torfu



Ryc. 11. Wpływ różnych pH substancji buforowej Mc Ilvaine'a na aktywność katalatyczną torfu wysokiego: 1 — sam torf wysoki; 2 — torf wysoki z substancją buforową pH = 8,0; 3 — torf wysoki z substancją buforową pH = 7,1; 4 — torf wysoki z substancją buforową pH = 5,5; 5 — torf wysoki z substancją buforową pH = 4,0; 6 — torf wysoki z substancją buforową pH = 2,4

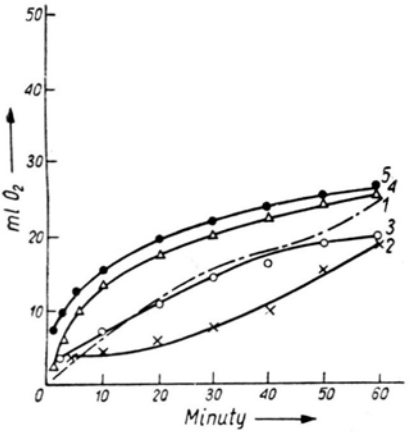
obliczyłam aktywność w temperaturze laboratoryjnej, jak to czyniłam przy innych opisywanych doświadczeniach. W pierwszym przypadku aktywność katalatyczna obniżyła się mniej więcej do jednej trzeciej, w drugim przy-



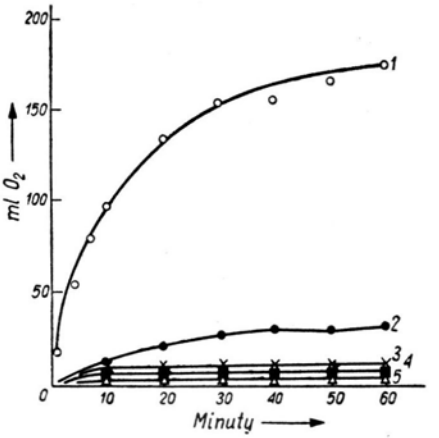
Ryc. 12. a — Wpływ różnych pH substancji buforowej Brittona i Robinsona na aktywność katalatyczną torfu wysokiego: 1 — sam torf wysoki; 2 — torf wysoki z substancją buforową pH = 7,0; 3 — torf wysoki z substancją buforową pH = 4,1; 4 — torf wysoki z substancją buforową pH = 1,9. b — Wpływ $HgCl_2$, NaN_3 i $NaNO_3$ na aktywność katalatyczną torfu wysokiego

padku do dwóch trzecich wartości pierwotnej. Takie same obniżenie wykazała próbka trzykrotnie zamrożona i rozmrożona.

Reakcja środowiska wywiera silny wpływ na aktywność katalatyczną. Reakcja zawiesiny torfu wysokiego z Soosu, w której badałam aktywność katalatyczną, miała pH = 5,8. Torf wysoki wykazywał dosyć znaczną zdolność buforową (ryc. 20). Wykresy na ryc. 9, 10, 11, 12 uwidaczniają wpływ



Ryc. 13. Wpływ dodanych substancji organicznych na aktywność katalatyczną: 1 — sam torf wysoki; 2 — torf wysoki z 1% peptonem po 12 godz; 3 — torf wysoki z 1% glikozą po 12 godz; 4 — torf wysoki z 1% peptonem po 36 godz; 5 — torf wysoki z 1% glikozą po 36 godz



Ryc. 14. Aktywność katalatyczna w zależności od głębokości profilu torfu wysokiego z miejscowości Malá Jizerka: 1 — próbka z głębokości 10—15 cm; 2 — próbka z głębokości 15—30 cm; 3 — próbka z głębokości 30—55 cm; 4 — próbka z głębokości 55—70 cm; 5 — próbka z głębokości 70—80 cm

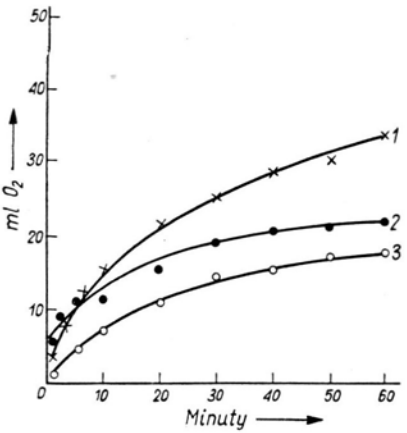
różnych roztworów buforowych i różnych wartości pH. Zamiast wody destylowanej, stosowanej przy innych badaniach, użyto tym razem substancji buforowych, których koncentracja zachowana była w granicach przepisowych (substancja buforowa siarczanowa i cytrynianowa wg Sörensena itd.). Podana wartość pH jest wartością stwierdzoną bezpośrednio przed mierzeniem.

Przefiltrowany, w wodzie wyługowany torf wysoki okazał się nieaktywny, wyługowany w fosforanowej substancji buforowej o pH = 7,5 wykazywał tylko nieznaczną aktywność.

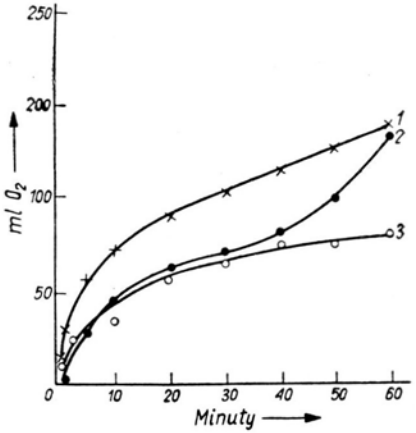
Przy próbach hamowania niektórymi związkami stwierdziłam kompletne zahamowanie przy użyciu 0,1N $HgCl_2$, 0,1N $Zn(NO_3)_2$, 1M $NaNO_3$, połowiczne działając 0,002M NaN_3, trzecią część wartości pierwotnej otrzymywałam w próbkach z 0,1N $AgNO_3$, czwartą część zaś z 0,01N $Pb(NO_3)_2$ (ryc. 12 a). Mierzyłam 15 minut po dodaniu inhibitorów. Soli miedziowych

($CuSO_4$, $CuCl_2$, $Cu(NO_3)_2$ w koncentracji 0,1N do 0,0001N wbrew danym z literatury nie można użyć, ponieważ same roztwory silnie katalizują rozkład nadtlenku wodoru. Dodając torf wysoki katalizę osłabiamy. Przy koncentracji 0,001N $CuSO_4$ i 0,001N $CuCl_2$ wartości są takie same, jak u samego torfu wysokiego, ponieważ prawdopodobnie cała miedź wiąże się z torfem wysokim.

Jak wiadomo z praktyki mikrobiologicznej, substancje organiczne dodane do gleby podwyższają aktywność katalatyczną, ponieważ wzmaga się



Ryc. 15. Aktywność katalatyczna profilu torfu niskiego z Kořenova. 1 — próbka z głębokości 10—35 cm; 2 — próbka z głębokości 35—60 cm; 3 — próbka z głębokości 60—100 cm



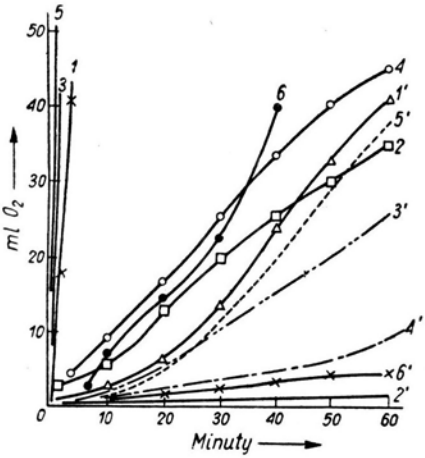
Ryc. 16. Aktywność katalatyczna profilu torfu niskiego z Kundratic pod Ještědem: 1 — próbka z głębokości 10—35 cm; 2 — próbka z głębokości 35—60 cm z domieszką ochry; 3 — próbka z głębokości 60—90 cm

pod ich wpływem działalność obecnych mikroorganizmów, co potwierdzają również wyniki mych doświadczeń z torfem wysokim, do którego dodano 1-procentowy roztwór glikozy i 1-procentowy autoklawowany pepton (2 atm przez 30 min). Uwidocznia się to na ryc. 13. Podwyższenie nastąpiło dopiero po 36 godzinach.

Wykresy na ryc. 14 i 15 wykazują regularne obniżenie się aktywności katalatycznej w miarę powiększania się głębokości profilu. Wyjątek stanowi II próbka torfu niskiego z Kundratic (ryc. 16), gdzie w znacznej mierze występują domieszki ochry. Przy ustalaniu wartości temperatura podniosła się do 60°C, a szybkość reakcji w porównaniu z innymi strefami profilu była zasadniczo wyższa w późniejszej fazie. Jest to jednak raczej wpływ żelaza niż katalazy.

Dlatego też w dalszych doświadczeniach badałam oddziaływanie różnych związków żelazawych i żelazistych i ich wpływ na rozkład H_2O_2 oraz zdol-

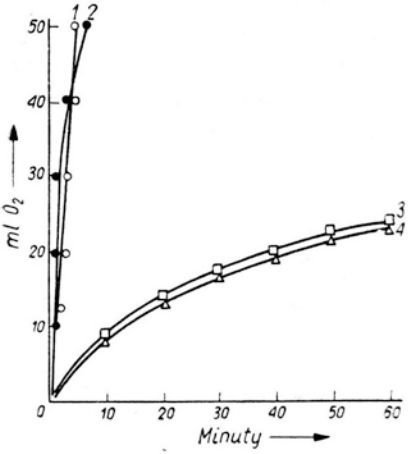
ność kompleksonu III wiązania żelaza. Wyniki podane na ryc. 17 wykazują, że tak żelazo dwuwartościowe, jak i trójwartościowe wprowadzają zakłócenia. 0,1N roztwór kompleksonu III zapobiega rozkładowi nadtlenku wodoru, lecz dopiero przy koncentracji soli żelazawych i żelazistych poniżej 0,001N. Wyższa koncentracja żelaza przy takiej samej koncentracji kompleksonu III powoduje rozkład nadtlenku wodoru, a szybkość zależna jest od ilości obecnego żelaza. Rozkład nadtlenku nawet przy najwyższej koncentracji (0,1N Fe) następuje przy obecności kompleksonu III dopiero



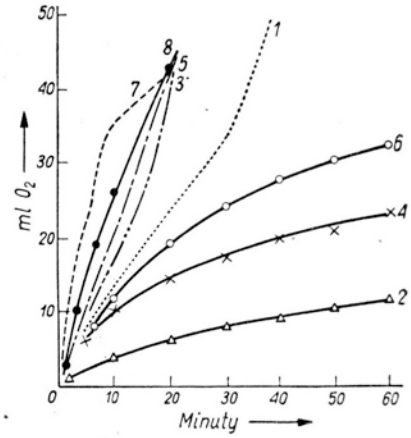
Ryc. 17. Rozkład nadtlenku wodoru pod wpływem różnych związków żelaza i wiązanie żelaza kompleksonem III.
1 — 0,01N $FeSO_4$, 1′ — 0,01N $FeSO_4$ + komplekson III;
2 — 0,001N $FeSO_4$, 2′ — 0,001N $FeSO_4$ + komplekson III;
3 — 0,01N $FeCl_2$, 3′ — 0,01N $FeCl_2$ + komplekson III,
4 — 0,001N $FeCl_2$, 4′ — 0,001N $FeCl_2$ + komplekson III
5 — 0,01N $FeCl_3$, 5′ — 0,01N $FeCl_3$ + komplekson III,
6 — 0,001N $FeCl_3$, 6′ — 0,001N $FeCl_3$ + komplekson III

po 10 minutach, co byłoby najzupełniej wystarczające dla ustalenia aktywności katalatycznej. Ważny dla ustalenia aktywności katalatycznej jest fakt, że jak widać z wykresu na ryc. 18, komplekson sam nie ma wpływu na aktywność katalatyczną torfowca i torfów wysokich. Dlatego też doskonale nadaje się do użytku u humolitów zawierających żelazo, na przykład w zastosowaniu do torfu niskiego siarkowo-żelazistego. Wykres na ryc. 19 przedstawia wyniki doświadczeń z rozkładem nadtlenku wodoru przy użyciu różnych ilości torfu niskiego z m. Františkovy Lázně bez kompleksonu i z kompleksonem. Wykres uwidacznia niższy rozkład nadtlenku wodoru w próbkach z kompleksonem, przy jednakowej ilości kompleksonu proporcjonalnie do obniżającej się ilości siarkowo-żelazistego torfu niskiego.

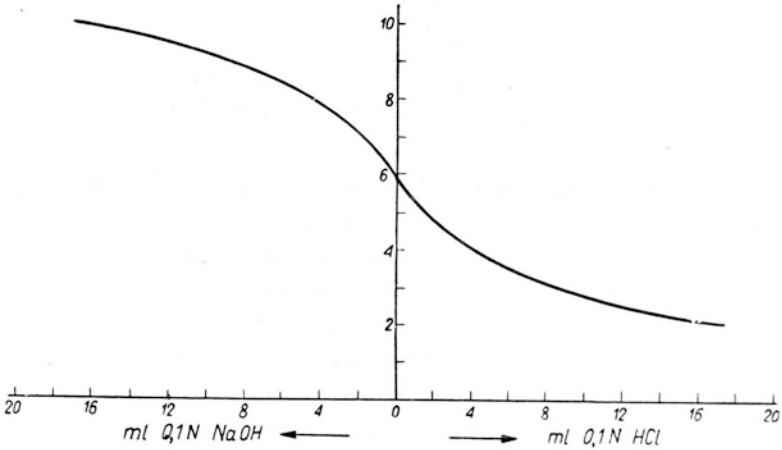
Substancje humusowe stanowią dalszy składnik borowiny, który mógłby brać udział w rozkładzie H_2O_2. Wyniki doświadczeń przeprowadzonych na substancjach humusowych dowiodły, że świeżo wytrącony kwas huminowy



Ryc. 18. Wpływ kompleksonu III na aktywność katalatyczną torfowca i torfu wysokiego: 1 — torfowiec; 2 — torfowiec z kompleksonem; 3 — torf wysoki; 4 — torf wysoki z kompleksonem



Ryc. 19. Aktywność katalatyczna różnych ilości siarkowo-żelazistego torfu niskiego z miejscowości Františkovy Lázně, samego i z kompleksonem III: 1 — 1 g torfu; 2 — to samo plus komplekson III; 3 — 2 g torfu; 4 — to samo plus komplekson III; 5 — 4 g torfu; 6 — to samo plus komplekson III; 7 — 8 g torfu, 8 — to samo plus komplekson III



Ryc. 20. Krzywa miareczkowania torfu wysokiego z Soosu. Oś X = ml; na lewo od osi Y — ml 0,1N NaOH; na prawo od osi Y — ml 0,1N HCl; oś Y=pH

z torfu wysokiego w zawiesinie wodnej nie miał żadnego wpływu na rozkład nadtlenku wodoru. To samo stwierdziłam w zneutralizowanym przesączu po wytrąceniu kwasów huminowych, w zneutralizowanym ługowym ekstrakcie kwasów huminowych i w przygotowanym humianie wapniowym. Oczywiście nie można powszechnie stosować wyników uzyskanych na laboratoryjnie przygotowanych preparatach doświadczalnych na kompleks humusowy w borowinie.

Wpływ powierzchni aktywnych badałam na świeżo wytrąconym wodorotlenku żelazistym, który szybko rozkładał H_2O_2.

Po przeprowadzeniu doświadczenia z paloną próbką torfu wysokiego, którego analiza podana jest w tabeli 1, stwierdziłam, że popiół rozkłada nadtlenek wodoru jeszcze szybciej niż naturalna próbka torfu wysokiego. W celu sprawdzenia, czy chodzi w tym przypadku o działanie chemiczne, czy też fizycznochemiczne, obserwowałam jeszcze aktywność katalatyczną na wyciągu wodnym z popiołu. Wyciąg okazał się najzupełniej nieaktywny.

TABELA 4

Szybkość reakcji w różnych rodzajach borowiny

Rodzaj	Głębokość	Miejscowość	Szybkość reakcji
Torf wysoki	50 — 100 cm	Soos	0,0011
,,	10 — 15 cm	Malá Jizerka	0,0154
,,	15 — 30 cm	,,	0,0017
,,	30 — 50 cm	,,	0,0009
,,	55 — 70 cm	,,	0,0005
,,	70 — 80 cm	,,	0,0002
Torf niski	10 — 35 cm	Kořenov	0,0017
,,	35 — 60 cm	,,	0,0012
,,	60 — 100 cm	,,	0,0008
,,	10 — 35 cm	Kundratice	0,0080
,,	35 — 60 cm	,,	0,0063*
,,	60 — 90 cm	,,	0,0054
Kredowy torf niski	—	Velichovky	0,0033
Świeży torf niski siarkowo-żelazisty	20 — 100 cm	Františkovy Lázně	0,0012*
Dojrzały torf niski siarkowo-żelazisty	20 — 100 cm	Františkovy Lázně	0,0099*
Bagno z basenu do dojrz.	—	Piešťany	0,0240*

Moim zdaniem chodzi więc tu o katalizę wywołaną aktywnością powierzchniową, w tym przypadku gelu kwasu krzemowego i wodorotlenku żelaza.

W tabeli 4 zostały podane szybkości reakcji zachodzących w różnych rodzajach borowiny.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Poglądy na charakter aktywności katalatycznej są w literaturze bardzo różne. Starałam się zanalizować wpływy poszczególnych składników i czynników na aktywność katalatyczną borowiny oraz na podstawie wyników określić jej charakter.

Różne pory roku, w których pobierano próbki przeznaczone do doświadczeń, nie miały u torfu wysokiego z Soosu żadnego wpływu na wartość aktywności katalatycznej. Pozornie ta okoliczność sama przemawiałaby przeciw charakterowi biotycznemu aktywności, głównie przeciw bakteriologicznemu jej pochodzeniu. Ilość mikroorganizmów i ich aktywność ulega w zależności od pór roku znacznym zmianom, jak wykazała w swych pracach mikrobiologicznych A. J. Volkova (1952), badająca bakteriologiczne własności bagna w różnych porach roku. Najsilniejsze działanie występowało w próbkach z okresu od czerwca do listopada, najsłabsze w marcu i kwietniu. Ale torf wysoki z metrowej głębokości stanowi najwidoczniej układ ustabilizowany, tak że pory roku nie powodują tu większych zmian.

Jeżeli chodzi o enzymy, ogólnie znany jest fakt, że aktywność obniża się w miarę przedłużania się czasu składowania. Enzymy w glebie są jednak w stanie adsorpcji (Hofmann 1955) i podobno nie zmieniają się. Przy naszych doświadczeniach nie stwierdziliśmy w próbkach torfu wysokiego, przechowywanych w zamkniętych słojach patentowych, zasadniczych zmian w ciągu 10 miesięcy. Baranowska (1954) podaje, że otrzymywała jednakowe wyniki co do aktywności katalatycznej w ciągu pięciu lat, badając próbki suszone na powietrzu. Hofmann twierdzi, że otrzymał jednakowe wyniki tak u próbek zawierających naturalną ilość wody, jak i u próbek suszonych na powietrzu. Jeżeli chodzi o nasze doświadczenia, to u torfu wysokiego wysuszanie znacznie zmieniało aktywność katalatyczną. Próbka suszona na powietrzu wykazała trzecią część aktywności próbki naturalnej, tak że w naszym przypadku nie można było użyć próbki suszonej w ten sposób. Stopień nieaktywności stanowi funkcję zawartości wody. W naszym przypadku, kiedy zawartość wody w naturalnej próbce torfu wysokiego wynosi ok. 90%, strata ponad jednej czwartej części wody prowadzi do bezpowrotnego obniżenia aktywności katalatycznej. Novák, Crha (1926) stwierdzili podwyższenie się aktywności katalatycznej gleby po wysuszeniu próbki i jej ponownym namoczeniu przed doświadczeniem. Odmienne wyniki osiągnięto u bagna, torfu niskiego kredowego i siarkowo-

-żelazistego, gdzie wysuszenie na powietrzu jeszcze podwyższyło aktywność katalatyczną. K á š (1926) widzi przyczynę wzmożenia się aktywności katalatycznej w glebie po wysuszeniu w zmniejszonej adsorpcji ewentualnie obecnych substancji działających katalatycznie. Wyjaśnienie to można przyjąć, jeżeli chodzi o bagno i kredowy torf niski. W siarkowo-żelazistym torfie niskim należy przypisać wzmożenie aktywności katalatycznej wietrzeniu pirytów.

W torfie wysokim prawdopodobnie do enzymów z bakterii przyłączają się jeszcze enzymy z roślin.

Aczkolwiek uświadamiam sobie, że jasnym dowodem katalazy w torfowcu może być jedynie jej izolowanie i identyfikacja, to jednak uważam, że obniżenie się aktywności w następstwie odumierania próbki, temperatury ponad 50°C i kwaśnego środowiska przemawia za jej obecnością.

Wpływ temperatury na aktywność katalatyczną torfu wysokiego dowodzi jej enzymatycznego charakteru. Działanie wyższych temperatur nie wyłącza jednak naruszenia również innych cząstek koloidalnych, nieenzymatycznych. Pod tym względem cenne wyniki dla celów rozpoznawczych mogłyby wnieść pomiary wiskozometryczne, które na razie wykazują tylko, że zmiany koloidalne wywołane temperaturą do ok. 90°C są powrotne. W enzymach naruszenie ma charakter powrotny. Obniżenie aktywności katalatycznej za pomocą temperatury przy naszych doświadczeniach z torfem wysokim z Soosu było bezpowrotne. Najzupełniej odmienne wyniki wykazały siarkowo-żelazisty torf niski, gdzie po nagrzaniu aktywność katalatyczna prawie że się nie zmieniła. Nieznaczne obniżenie w następstwie nagrzania stwierdziliśmy w kredowym torfie niskim i w bagnie. Okoliczność ta dowodzi zupełnie odmiennego charakteru aktywności katalatycznej z jednej strony u torfu wysokiego i prostych torfów niskich, gdzie wartość aktywności katalatycznej obejmuje również składnik enzymatyczny (katalazowy), a z drugiej strony u siarkowo-żelazistych torfów niskich, kredowych torfów niskich i naszych bagien, gdzie chodzi prawdopodobnie o katalizę powodowaną metalami i powierzchniową aktywnością.

Prace na temat wpływów pH na aktywność katalatyczną zgodnie potwierdzają, że obniża się ona w środowisku kwaśnym i na odwrót. Mógłby więc ktoś wysunąć zastrzeżenie, że ustalenie aktywności katalatycznej należałoby przeprowadzać przy jednakowym pH. Jeżeli zakładamy występowanie składnika katalazowego, to optymalne warunki byłyby dla fosforanowej substancji buforowej przy pH = 7,0. Jestem jednak zdania, że ustalanie aktywności katalatycznej znacznie by się skomplikowało w tak złożonym środowisku, jak w borowinie, gdzie spotykamy pH poniżej 1 (borowiny siarkowo-żelaziste) do pH = 8 (bagno), gdzie istnieją takie możliwości reakcji wymiennych i gdzie charakter aktywności katalatycznej jest w poszczególnych rodzajach tak różny. Aktywność katalatyczna ma nas infor-

mować o właściwościach takiej borowiny, jaka jest używana. O właściwościach wynikowych borowiny decydują materiał wyjściowy i warunki środowiska. Aktywność katalatyczna, jeżeli ma określać własności materiału, powinna być badana na próbce naturalnej.

Wpływy różnych substancji buforowych i różnej kwasowości na aktywność katalatyczną badałam na torfach wysokich z Soosu. Obniżenie się aktywności katalatycznej w środowisku kwaśnym przemawia za jej charakterem enzymatycznym, lecz nie wyklucza zmiany koloidalnych cząstek nieenzymatycznych (głównie próchnicznych), zmniejszenie powierzchni i ewentualne obniżenie zjawisk powierzchniowo-katalitycznych.

Przy ustalaniu aktywności katalatycznej w torfach wysokich ciekawe wyniki osiągnięte zostały podczas obserwacji wpływów niektórych związków, podawanych w literaturze fachowej jako hamulce katalazy. W pełni hamujące działanie wykazały związki 0,1N $HgCl_2$, 0,1N $Zn(NO_3)_2$, 1M $NaNO_3$, połowiczne — 0,002M NaN_3. Na jedną trzecią hamował 0,1N $AgNO_3$, na jedną czwartą 0,01N $Pb(NO_3)_2$. Działanie całkowicie różniące się od danych z literatury wykazały sole miedziowe, aczkolwiek niektórzy autorzy (Vigorov 1955) z dobrymi wynikami stosowali je jako hamulce katalazy, a niektórzy nawet (Eyster 1954) starali się tą drogą odróżnić katalazę bakteriologiczną od roślinnej. W naszym przypadku same sole miedziowe silnie rozkładały nadtlenek wodoru. Przez dodanie torfu wysokiego katalazę osłabialiśmy, prawdopodobnie dzięki wiązaniu miedzi próchnicą (Schlichting 1955).

Zagadnienie stosowania inhibitorów w celu wyjaśnienia charakteru aktywności katalatycznej w borowinie jest problematyczne z powodu łatwości wiązania się ich głównie z próchnicą i oddziaływania na fizykalno-chemiczne własności borowiny.

W naszych doświadczeniach dodawanie substancji organicznych powodowało podwyższenie się aktywności katalatycznej. Podobne wyniki ogłasza Seifert (1956) i Biljański (1956). Jasne jest, że stanowi to dowód obecności nie katalazy w badanej próbce, lecz tylko mikroorganizmów zdolnych do produkowania katalazy i prawdopodobnie do jej podwyższania.

W profilach torfu wysokiego i niskiego wraz z głębokością obniża się też aktywność katalatyczna, co przemawiałoby za obecnością katalazy. Podobne wyniki podaje Kvapil i Němec (1923) we wzorach leśnych profili glebowych. Káš (1939) uważa określony stosunek liczb aktywności katalatycznej w profilu glebowym za charakterystyczny dla danego typu gleby. Obniżanie się aktywności katalatycznej wraz z powiększaniem się głębokości jest charakterystyczne dla gleby bielicowej, co Baranovská (1954) ogranicza jedynie na leśne gleby bielicowe. E. Hofmann i G. Hofmann (1955) stwierdzają obniżanie się aktywności wraz z przybywa-

niem głębokości u amilazy, ureazy, sacharazy, proteazy i β-glikozydazy. Biljanski (1956) mówi o obniżaniu się aktywności katalatycznej z przybywaniem głębokości profilu u bagna limanowego z Odessy, podkreślając związek między tym spadkiem aktywności a ubywaniem ilości mikroorganizmów.

Wpływ substancji próchnicznych na aktywność katalatyczną objaśniany jest jako zjawisko związane z działaniem mikrobiologicznym, a więc jako wpływ pośredni (Baranowska), a poza tym jako działanie ich systemu polidyspersyjnego oraz zdolności chemicznego utleniania (Odén 1919). Niektórzy autorzy stosują nawet metodę ilościowego ustalania CO_2, powstającego przy działaniu nadtlenku wodoru na substancje organiczne, jako metodę prowadzącą do określenia stopnia humifikacji części organicznych (Robinson i Jones 1927). Nasze doświadczenia z świeżo wytrąconymi kwasami huminowymi w zawiesinie wodnej i z towarzyszącymi im substancjami próchnicy wykazały jednak, że w takich formach nie mają one wpływu na rozkład nadtlenku wodoru. Uświadamiam sobie w pełni, że w takich doświadczeniach na preparatach laboratoryjnych substancji humusowych mam je w zupełnie odmiennej formie, niż występują one w torfach wysokich. Uwalnianym gazem był we wszystkich wypadkach tlen, a nie dwutlenek węgla, jak stwierdzone zostało absorpcją w ługu. Dwutlenek węgla uwalnia się dopiero po dłuższym czasie (ponad 24 godziny). Ustalanie aktywności katalatycznej trwa najwyżej 2 godziny.

Rozkład nadtlenku wodoru może poza tym być następstwem działania żelaza, manganu itd. Działanie może być dwojakie: chemiczne przez utlenianie tych substancji i fizykalnochemiczne przez działanie powierzchni czynnych.

Wyniki doświadczeń udowodniły, że silny rozkład nadtlenku wodoru wywołany jest związkami dwuwartościowego i trójwartościowego żelaza. Rozkładowi można w znacznej mierze zapobiec przez dodanie kompleksonu III. Ilość tego kompleksonu musi być o wiele większa, niż by to odpowiadało chemicznemu równoważnikowi żelaza. Komplekson III daje zwłaszcza dobre wyniki w początkowym stadium reakcji. Ponieważ komplekson — jak dowodzą dotychczasowe nasze wyniki doświadczeń — nie ma wpływu na aktywność katalazy i aktywność katalatyczną torfu wysokiego, warto by było przeprowadzić dalsze eksperymenty z wykorzystaniem tej własności dla maskowania żelaza przy ustalaniu aktywności katalatycznej gleb. Na razie przeprowadzone zostały doświadczenia z siarkowo-żelazistym torfem niskim. Nie można jeszcze orzec, jak jest żelazo wiązane i czy nie zachodzą przy tym inne poboczne reakcje.

Na podstawie dotychczasowych doświadczeń można stwierdzić, że jeśli chodzi o peloidy, aktywność katalatyczna stanowi sumaryczny miernik enzymatycznej (katalazowej) aktywności substancji o redukcyjnym lub

katalatycznym działaniu i czynnej powierzchni. Reakcje środowiska i substancje humusowe mają tylko pośredni wpływ; reakcja alkaliczna tym, że warunkowana jest obecnością różnych pierwiastków (Na, K, Ca) wywołujących aktywację białka i enzymów, oddziaływających na fizycznochemiczny stan koloidów i umożliwiających silniejszy rozwój bakterii, humusowe substancje zaś przez działanie ich systemu polidyspersyjnego i tym, że swą genezą związane są z działaniem mikrobiologicznym. Który czynnik będzie przeważać, zależy od rodzaju borowiny. W torfach wysokich i w prostych torfach niskich, obok substancji o własnościach redukcyjnych i czynnej powierzchni, będzie odgrywała również rolę aktywność katalazowa (krzywe pH, krzywe temperatur, obniżenie się aktywności katalatycznej z przybywaniem głębokości profilu). W siarkowo-żelazistych torfach niskich, głównie w torfach dojrzałych, przy tak niskiej wartości pH, obecna katalaza jest już ewentualnie inaktywowana i rolę tu odgrywają substancje odznaczające się działaniem redukcyjnym lub katalatycznym (głównie żelazo). Jeżeli chodzi o nasze bagna, to działają tu pozostałe czynniki charakteru nieenzymatycznego, jak tego dowodzą wyniki doświadczeń z gotowaniem materiału doświadczalnego.

Wyniki aktywności katalatycznej w różnych rodzajach borowiny należy oceniać z tego właśnie punktu widzenia. Bliższe wyjaśnienia przyniosą może stale kontynuowane badania innych enzymów.

WNIOSKI

1. Pobieranie próbek torfu wysokiego w różnych porach roku nie miało wpływu na wartość aktywności.

2. Przechowywanie próbki torfu wysokiego przez 10 miesięcy bez dodostępu powietrza nie miało zasadniczo wpływu na wartości aktywności katalatycznej, podczas gdy przechowywanie próbki z dostępem powietrza spowodowało podwyższenie się aktywności katalatycznej.

3. Wysuszenie próbki torfu wysokiego do 60% zawartości wody nie miało wpływu na wartość aktywności katalatycznej. Wysuszenie silniejsze, ponad tę granicę, wywołało bezpowrotnie obniżenie się aktywności katalatycznej aż do jednej trzeciej pierwotnej wartości. W kredowych torfach niskich, w siarkowo-żelazistych torfach niskich i w bagnie wysuszenie próbki na powietrzu miało ten skutek, że aktywność katalatyczna w porównaniu z próbką naturalną podwyższyła się jeszcze.

4. W podgrzanej próbce torfu wysokiego i prostego torfu niskiego aktywność katalatyczna obniżyła się przy 50°C do połowy, przy 80°C zmalała prawie do zera. Aktywność katalatyczna w siarkowo-żelazistym torfie niskim i w bagnie, zagrzanych do 80°C, pozostała prawie że bez zmiany, w kredowym torfie niskim lekko obniżyła się.

5. Aktywność katalatyczna torfu wysokiego malała proporcjonalnie do pH, i to przy wszystkich rodzajach użytych substancji buforowych. Przy pH = 2,5 zmalała prawie że do zera.

6. Roztwory 0,1N $HgCl_2$, 0,1N $Zn(NO_3)_2$, 1M $NaNO_3$ wywołały całkowite zahamowanie aktywności katalatycznej w torfie wysokim, roztwory 0,002M NaN_3 hamowały ją połowicznie, 0,001N $Pb(NO_3)_2$ do jednej czwartej, 0,1N $AgNO_3$ do jednej trzeciej wartości pierwotnej.

7. 1% roztwór glikozy i 1% roztwór peptonu po 36 godzinach podwyższyły aktywność katalatyczną torfu wysokiego.

8. Przeprowadzone zostały próby maskowania żelaza dwuwartościowego i trójwartościowego, które bierze silny udział w rozkładzie nadtlenku wodoru. Komplekson III daje dobre wyniki, zwłaszcza w początkowym stadium i jeżeli dodawany jest w dostatecznej ilości. Między kompleksonem i katalazą nie zachodzi prawdopodobnie reakcja i można by go wykorzystać w celu maskowania żelaza przy ustalaniu aktywności katalatycznej gleb.

9. Substancje o aktywności powierzchniowej mają silny wpływ na rozkład nadtlenku wodoru, co udowodnione zostało na świeżo wytrąconym wodorotlenku żelaza i na popiele. Ich wpływów nie można na razie wykluczyć.

10. W doświadczeniach z laboratoryjnie przygotowanymi preparatami kwasu huminowego i towarzyszącymi substancjami humusowymi nie stwierdzono dotychczas wpływu na rozkład nadtlenku wodoru.

11. Podano wartości aktywności katalatycznej w różnych rodzajach peloidów i wyjaśniono ich charakter. Aktywność katalatyczna maleje w prostych torfach niskich i w torfach wysokich w profilu stopniowo wraz z powiększającą się głębokością. Odgrywa tu rolę, poza substancjami o właściwościach redukcyjnych i aktywności powierzchniowej, również aktywność enzymatyczna (katalazowa). W siarkowo-żelazistych torfach niskich i bagnie odgrywają rolę również substancje o właściwościach redukcyjnych i aktywności powierzchniowej. Nieenzymatyczny charakter rozkładu nadtlenku wodoru przejawia się w tych wypadkach w prawie nie zmienionej aktywności katalatycznej gotowanej próbki w porównaniu z próbą naturalną, w niektórych przypadkach w reakcjach egzotermicznych, w powiększeniu szybkości reakcji oraz w liniowej funkcji zależności czasu i uwolnionej ilości tlenu.

Dziękuję serdecznie Akademikowi S. Prátowi za cenne wskazówki, których udzielał mi w okresie opracowywania niniejszego artykułu, p. M. Baslerowej za pielęgnowanie kultur torfowca oraz p. H. Hájkównie za staranną współpracę techniczną.

Naukowo-Badawczy Zakład Balneologiczny Františkovy Lázně
kierownik: prof. dr med. K. Prerowský
Zakład Fizjologii Roślin Uniwersytetu Karola w Pradze
kierownik: Akademik Ph. dr S. Prát

ZUSAMMENFASSUNG

1. Die Probeentnahme der Torfe in den verschiedenen Jahreszeiten hatte keinen Einfluss auf die Werte der katalatischen Aktivität.

2. Die Lagerung der Torfproben in einer Zeitspanne von 10 Monaten unter Luftabschluss hatte keinen wesentlichen Einfluss auf die Werte der katalatischen Aktivität jedoch hatte die Lagerung bei Luftzutritt eine Erhöhung der katalatischen Aktivität zur Folge.

3. Das Austrocken der Torfprobe bis zu einem 60%-Wassergehalt hatte keinen Einfluss auf die Werte der katalatischen Aktivität. Eine Austrockung über diese Grenze hatte eine irreversibile Abnahme der katalatischen Aktivität bis zu einem Drittel ihres ursprünglichen Wertes zur Folge. Bei Kreidemoortorfen, Eisenvitriolmoortorfen und Schlammen hatte sich bei Lufttrockung die katalatische Aktivität im Vergleiche zur Naturdrobe noch erhöht.

4. In den bei 50°C erwärmten Proben von Flach- und Hochmoortorf erniedrigte sich die katalatische Aktivität bis auf die Hälfte, bei 80°C fast auf Null. Bei Eisenvitriolmoortorfen und Schlammen blieb durch Erwärmen auf 80°C die katalatische Aktivität fast unverändert, bei Kreidemoortorfen war ein mässiges Absinken.

5. Die katalatische Aktivität von Hochmoortorf sank proportional mit dem sinkendem pH und dies bei allen Arten der verwendeten Puffern, bei einem pH = 2,5 fast zur Null.

6. Lösungen von 0,1N $HgCl_2$, 0,1N $Zn(NO_3)_2$ und 1M $NaNO_3$ verursachten bei Hochmoortorfen eine vollständige Hemmung; Lösungen von 0,002M NaN_3 hemmten zur Hälfte, 0,001N $Pb(NO_3)_2$ zu einem Viertel, 0,1N $AgNO_3$ zu einem Drittel des ursprüglichen Wertes.

7. 1% Glukose und 1% Peptonlösung, erhöhten nach 36 Stunden die katalatische Aktivität der Hochmoortorfe.

8. Es wurde eine Maskierung von 2- und 3-wertigem Eisen versucht, welches bei der Wasserstoffperoxydzerlegung einen grossen Anteil hat. Komplexon III hatte sich gut bewährt, besonders in der Anfangsphase und zwar falls er im Überschusse zugesetzt war. Komplexon reagiert wahrscheinlich nicht mit der Katalase und könnte daher zur Maskierung des Eisens bei der Bestimmung der katalatischen Aktivität ausgenützt werden.

9. Oberflächlich aktive Stoffe beeinflussen stark die Zersetzung von Wasserstoffperoxyd wie bei frisch ausgefälten Eisenhydroxyd und bei Asche ermittelt wurde. Dieser Einfluss lässt sich einstweilen schwer ausschliessen.

10. In Modelversuchen mit Huminsäuren und Humusbegleitstoffen hatte sich bisher kein Einfluss auf die Zersetzung von H_2O_2 gezeigt.

11. Es sind die Werte der katalatischen Aktivität in verschiedenen Arten von Peloiden angeführt und ihre Beschaffenheit erklärt. Bei Flach-

und Hochmoortorfen nimmt die katalatische Aktivität im Profile mit zunehmender Tiefe ab. Neben Stoffen mit reduzierenden Eigenschaften und mit aktiver Oberfläche machte sich auch die enzymatische (katalatische) Aktivität bemerkbar. Bei Eisenvitriolmoortorfen und Schlammen machen sich auch Stoffe mit reduzierenden Eigenschaften und aktiver Oberfläche bemerkbar. Die nichtenzymatische Beschaffenheit der Wasserstoffperoxydzersetzung äussert sich in diesen Fällen durch fast unveränderte katalatische Aktivität der gekochten Probe im Vergleiche zur Naturprobe in einigen Fällen durch exothermische Reaktion, durch eine Erhöhung der Reaktiongeschwindigkeit und in lineärem Verhältnis zwischen Zeit und Menge des freigelegten Sauerstoffes.

LITERATURA

1. Arnd Th. 1931, Zur Kenntnis des Puffervermögens der Moorböden, Zeitschr. für Pflanzenernährung, Düngung und Bodenkunde, A 19: 334—342.
2. Bamann E., Myrbäck K., 1941, Die Methoden der Fermentforschung, Leipzig.
3. Baranovskaja A. V., 1954, Ob aktivnosti katalazy v někotorych počvach lesnoj i stěpnoj zon, Počvoveděnije 11: 41—48.
4. Biljanskij F. M., 1956, Rol mikroorganizmov v utvoreniji fermentov v likuvalnych grjazach, Mikrobiologičeskij žurnal AN UR 18: 26—29.
5. Brožek B., 1954, Vliv vegetační pokrývky na regeneraci sirnoželezitých slatin, Výroční zpráva Výzkumného ústavu lázeňského.
6. Brožek B., Pokorná V., 1957, K regeneraci peloidů, Časopis lékařů českých 96: 906—911.
7. Drobník J., 1957, Použiti biochemických metod v půdní mikrobiologii, Kandidátská práce biologické fakulty university Karlovy, Praha.
8. Hadač E., Brožek B., Pokorná V., 1953, Čsl. peloidy, Praha.
9. Hofmann E., Hofmann G., 1955, Über die Herkunft, Bestimmung und Bedeutung der Enzyme im Boden, Zeitschr. f. Pflanzenernährung, Düngung und Bodenkunde 70: 97—104.
10. Hofmann E., 1955, Über die Rolle der Enzyme bei der Humusbildung, Zeitschr. f. Pflanzenernährung, Düngung und Bodenkunde 69: 165—172.
11. Káš V., 1926, Příspěvek k vysvětlení fysiologicky různého chování půdy vlhké, vyschlé a několikráte vysoušené, Sborník Československé akademie zemědelské 1: 89—152.
12. Káš V., 1939, Mikrobiologická charakteristika klimatogenních půdních typů, Sborník české akademie zemědělské 14: 86—100.
13. Káš V., 1941, Hlavní půdní typy na algonkických horninách z okolí Průhonic u Prahy. II. část. Charakteristika mikrobiologická, Sborník české akademie zemědělské 16: 286—292, 1941.
14. Káš V., Mařan B., 1948, Biologie lesa: 542—544: Praha.
15. Keilin D., 1936, The action of Sodium Azide on Cellular Respiration and on Some Catalytic Oxydation Reactions, Proceedings of the Royal Society 121: 165—173, Serie B, Biological Science.
16. Klika J., Novák V., Gregor A., 1954, Praktikum fytocenologie, ekologie, klimatologie a půdoznalství: 740—741, Praha.

17. Kiermeier F., Coduro E., 1954, Der Einfluss des Wassergehaltes auf Enzymreaktionen in wasserarmen Lebensmitteln, Zeitschrift für Lebens-Untersuchung und Forschung 98: 119—129.
18. Kultjugin A., Kanašenok N., 1939, Opredělenije aktivnosti peroksidazy v prisutstviji katalazy, Biochimija 4: 133.
19. Mařan B., 1944, Půda jako základ lesní tvorby. Encyklopedie lesnictví Ia, Matice lesnická, Písek 1944.
20. Maštakov S. M. Kulakovskaja T. N., Goldina S. N., 1954, Aktivnost' fermentov i intensivnost dychanija kak pokazateli biologičeskoj aktivnosti počvy, DAN SSSR 98: 141—144.
21. Němec A., Kvapil K., 1923, Biochemické studie o aciditě lesních půd, Sborník Výzkumných ústavů zemědělských 2: 1—58.
22. Novák V., Crha B., 1939, Katalatická mohutnost železitomanganových konkrecí půdních, Sborník české akademie zemědělské 14: 310—314.
23. Odén S., 1919, Die Huminsäuren. Kolloidchemische Beihefte 11: 240.
24. Pokorná V., 1956, Příspěvek k poznání humolitogense, Ústavní publikace, Frant. Lázně.
25. Prát S., 1955, Zpráva o pokusech s humusovým uhlím (kapucíny), Ústav pro fysiologii rostlin KU, Praha (Rukopis).
26. Prát S., 1957, Působky v peloidech. Časopis lékařů českých 96: 932—934.
27. Robinson G., W. Jones, J. O. Evans R. J., 1927, The degree of humification of the soil organic matter, Abstracts of the proceedings of the first international Congress of soil Science p. 100.
28. Seifert J., 1956, Mikrobní procesy a katalytická mohutnost půdy, Čsl. mikrobiologie 1: 74—86.
29. Scharrer K., 1936, Über die katalytischen Eigenschaften der Böden, Der Forschungsdienst 1: 824—831.
30. Schlichting E., 1955, Kupferbindung und fixierung durch Humusstoffe, Acta Agriculturae Scandinavica 5: 313—356.
31. Stoklasa J., 1908, Enzymatische Potenzen, die Jahrtausende aktiv erhalten wurden, Franzensbader Tagblatt von 5. September 1908.
32. Vigorov L. I., 1955, Inaktivacija katalazy prorostkov pšenicy soljami tjažolych metallov i inaktivacija obrazujuščichsja zimogenov, Biochimija 20: 3—15.
33. Volgunov G. P., 1950, Oslablenije okislitelnych processov v rastitelnych produktach pri suške i chraněniji, Biochimija 15: 552—557.
34. Volkova A. Ju., 1953, Antibakterialnyje svojstva lečebnych grjazej i uslovija jich formirovanija, Mikrobiologija 21: 177—184.