

## Biopolimer-fém komplex rendszerek

### I. Kísérletek nagytisztaságú tőzeg humuszanyagok és fémkomplexeik előállítására

A biopolimereknek, mint a poliszaccharidák (neutrális, savas és mukopoliszaccharidák), fehérjék (polipeptidek), nukleinsavak, huminsavak stb. fémekkel alkotott komplexei, mint biológiailag aktív vegyületek, rendkívül nagy gyakorlati jelentőségük miatt kerültek az elméleti kutatás homlokterébe.

A természetben legnagyobb mennyiségben előforduló biopolimerek egyike a humuszanyagok, melyek fő alkotó részei a lápoknak, tőzgeknek, barnaköszének és jelentős mennyiségben található a talajokban is. A talaj dinamikájában és termékenységében döntő szerepet játszanak a talaj humuszanyagai, ezeknek fémionokkal alkotott komplex rendszerei, valamint a fémionokkal és hidrogénionokkal, mint hidakkal összetartott humuszanyag-ásvány komplexei. A növények számára nélkülözhetetlen mikroelemek jó részét a humuszanyagok főként kelát típusú komplex kötésben tartalmazzák, míg az agyag-ásványok ionkötésben [36, 68, 119, 122].

Számos dolgozat és szabadalom jelent meg, mely a *mikroelem trágyázást* fémhumátok formájában igyekszik megoldani [4, 16, 32, 54, 62, 81, 130, 156]. Ezzel szemben az is jól ismert jelenség, hogy humuszanyagokban gazdag talajok, mint a rétláptalaj, tőzegláptalaj stb. növényeiben különösen nagyobb pH értékeknél, így kalcium-humát jelenlétében egyes mikroelemek: vas, réz, mangán, esetleg cink és kobalt, hiánya lép fel, ami csökkent biológiai értékű termést eredményez [9, 105, 118, 144, 145, 150, 151, 155]. Az ilyen takarmányt fogyasztó állatállománynál mikroelem hiányjelenségek: szaporodásbiológiai zavarok, majd betegségek, mint anaemia [152], sőt a szervezet általános védekezőképességének csökkenése és az ezt követő fertőzés következtében actinomyosis [143], brucellosis [3, 46, 108] léphetnek fel. A takarmány könnyen romló, nehezen raktározható és tartósítható.

A nagy humuszanyag-tartalom gyakorlatilag vízben oldhatatlan kelát kötésben tartja a két- és többértékű fémionok-

kat, ezáltal a növény gyökere számára jó-részt felvehetetlenné teszi a pozitív oxidáció-állapotban levő mikroelemeket. Ez a hatás azt is meggátolja, hogy mikroelem műtrágyázással láptalajokban a növényzet nyomelem hiányát megszüntessék. Megemlítjük, hogy hasonló nyomelemhiányos jelenségek, pl. klorózis léphetnek fel nagy mennyiségű friss istállótrágya alkalmazása esetén is.

A humuszban kötött nyomelemek mobilizációja, a megfelelő pH értéken nagyobb stabilitású és vízdékonyabb, kisebb molekulású komplexeket alkotó kelátorokkal, mint pl. az aminosavakkal lehetséges. KICKUTH, ALDAG és SCHEFFER [64] membrán diafragmás modell kísérletei szerint:

huminsav-fémkomplex + aminosav  $\rightarrow$   
 $\rightarrow$  aminosav-fémkomplex + huminsav  
 reakciók viszonylag elég gyorsan, megfelelő, a pH-tól és az alkalmazott aminosavak, valamint a fémionok minőségétől függő mértékben játszódnak le ahhoz, hogy a növények ily módon hasznosítani tudják a nyomelemeket. E modell kísérlet eredményei csak úgy lesznek a gyakorlatba átvihető, gazdaságossá csak úgy válhatnak, ha megfelelő módon, pl. enzim rendszerek segítségével képesek megoldani a fémhumátoknak a talaj kelátorai-val történő reakcióját, a talaj fehérjekészlete egy részének aminosavakra, ill. egyszerű peptidekre történő hasítását fémhumátok jelenlétében.

A huminsavak alkálifém, valamint alkáliföldfém sóit is gyakran használták szerves trágyaként [1, 50, 52, 53, 57, 62, 99, 111, 137, 157]. Megállapították, hogy a huminsavak önmagukban is elősegítik a növényi magvak csírázását és azok növekedését [41, 42, 43, 51, 58, 63, 101, 113, 146, 147, 163], számos enzim gátlói, ill. aktivátorai [20, 72, 73, 74], valamint VISSER szerint [154] befolyásolják az élő szervezetekben d-glukóz, zsírok, aminosavak és nukleotid bázisok metabolizmusát, komplexet képeznek fehérjékkel, pl. szérum albuminnal [66, 102, 103].

Már BERZÉLIUS óta intenzív kutatás folyt a humuszanyagok területén, azonban ezen gyűjtőnév alatt összefoglalt anyagok sokrétűsége, sokféle fajtája és egy fajtán belüli heterogenitása a legkülönbözőbb kinyerési módok és az anyagok nem megfelelő tisztasága miatt gyakran a legalapvetőbb kérdésekre sem lehetett megnyugtató feleletet kapni.

A kutatók munkáját rendkívül megnehezítette az a körülmény, hogy egy viszonylag egységes, szűk anyagfrakción belül is kicsi a valószínűsége annak, hogy két molekula azonos legyen. E miatt minden olyan törekvés, mely kémiai képlet vagy képletek felállítását célozta, nem bizonyult és feltehetően nem is bizonyulhat eredményesnek. Csupán a *funkciós csoportok*, például a karboxilcsoportok azonossága, közel egyező száma és hasonló elhelyezkedése, hasonló felépítésű alapváz esetén biztosítja a hasonló fizikai és kémiai tulajdonságokat és ezáltal alapul szolgál a vegyész munkájához [37, 91, 142, 158].

Célunk egy viszonylag jó minőségű, egységes humuszanyag reprodukálható, nagytisztaság fokú, gyakorlatilag homogén állapotban történő, iparilag is kivihető előállítás és a legfőbb fizikai-kémiai sajátosságok tanulmányozása volt, hogy ezáltal a talajtani, növényi és állat fiziológiai vizsgálatokat megnyugtató módon előkészíthessük. Választásunk a jó minőségű, viszonylag egységes fajta ún. tőzeghuminsavakra esett, modell anyagul a keszthelyi környéki úsztatómajori síkláptőzegeből izolálható anyagokat választottuk. [76, 77, 78, 87, 88, 94, 95, 132, 162].

#### Vizsgálati anyag és módszer

A keszthelyi környéki úsztatómajori síkláptőzeg főként kalcium-humáthból álló, mészsizzappal és mészvázakkal, valamint agyagásványokkal, homokkal keveredett, enyhén bázisos tőzeg (pH = 7,8). Légszáraz állapotban hamutartalma 28–43%, míg 18–39% széntartalomról számított szerves anyaga kb. 30–70% között van, H = 3–4%, N = 2%, összfehérje 12,5%. A hamu összetétele az emissziós spektrográfiai elemzések alapján (Dr. VECSENYÉS LAJOS, TÁKLI, Budapest, 1970) a főalkotók: Ca, Al, Si, Fe, Mg (10-es %), biztonsággal kimutatható: Na, B (1–10%), kimutatható: Ba, Li, Ti, Mn, Cu, Ni, K (tized %), nyomokban kimutatható Pb (10<sup>-6</sup>%), Mo (10<sup>-6</sup>%), Be, Zn.

Összehasonlításul az ecsédi lignitből és a tatabányai barnaköszénből extrahált huminsavakat is megvizsgáltuk. Az ecsédi

lignit felszíni fejtésből származó, fás szerkezetű, pleisztocén kori képződmény. Analízis adatai: 49,1% C, 3,01 H, 1,58% S, 14,18% O, 1,10% N, 8,75% hamu, 22,28% víz, 7,4% extrakt bitumen [133, 134]. A tatabányai alsó eocén barnaköszén a XV. akna déli bányamező –83 szintjéből származó minta. Analízis adatai: 59,3% C, 4,7% H, 2,6% S, 13,6% O, 0,9% N, 6,8% hamu, 12,2% víz, 10,1% extrakt bitumen [133, 134].

#### 1. Humuszanyagok

Számos extrakciós módszer ismeretes az irodalomból [2, 3, 4, 12, 13, 14, 15, 25, 34, 56, 60, 61, 86, 95, 100, 106, 124, 125, 126, 136], melynek célja a talajból, lignitből, tőzegeből, barnaköszénből a huminsavak, hymatomelánsavak és fulvósavak lehetőleg változatlan, „natív” formában történő, kvantitatív kinyerése. Miután a humuszanyagok gyengén *savas* karakterűek, gazdaságos, közel kvantitatív feltárásuk csak erősen bázisos extraháló anyagok: alkáli-hidroxidok, alkáli-foszfátok, alkáli-karbonátok stb. segítségével lehetséges. Az irodalomban szép számmal szerepelnek gyengén bázisos és semleges, sőt savas humuszanyag extraháló szerek. Ezek azonban a komplex képzőktől eltekintve, csak gyenge feltárást eredményeznek. Az erősen bázisos extrahálószer alkalmazásának pl. az általunk alkalmazott nátrium-hidroxidos kiúgozásnak másik nagy előnye, hogy a szennyező anyagok jó részét: a bitumeneket, viaszokat, gyantákat, zsírokat, foszfolipoidokat, szénhidrátokat kvantitatíven elbontja és eltávolítja [39]. Ezáltal kisebb mennyiségű szennyező anyagok esetén, (hazai tőzegek bitumentartalma kicsi, 3–4%) a Keszthely környéki síkláptőzeegnél a körülményes benzol–alkohol–éter (kloroform, vagy acetone) oldószer eleggyel Soxhlet-extraktorban történő forralás elhagyható. Ennek elhagyása részben azért előnyös, mert a szerves oldószer elegyek a bitumenek közül csak az ún. extrakt bitumeneket képesek kioldani, másrészt ezek értékes kisebb molekulású hymatomelánsav és fulvósav összetevőket is eltávolíthatnak [125, 148]. A fulvósav veszteség elkerülése miatt sem alkalmaztuk az általában szokásos savas előkezelést, noha az a mész bevonatok, valamint egyes ásványi szennyezések feloldása miatt előnyös lehetett volna. Ezenkívül a Keszthely környéki síkláptőzeg nagy mésztartalma miatt a nagy sav felhasználás nem lett volna gazdaságos.

Erős bázisos extrahálószer alkalmazása viszont azzal a hátránnyal jár, hogy



a koncentrációtól és a hőmérséklettől függően többé-kevésbé degradálják a huminsavakat, amint ezt a „molekulásúly”, azaz az atomsúly egységben megadott részecskesúly vizsgálatok is igazolták (lásd Biopolimer fémkomplex rendszerek II. rész). Emiatt célszerű volt szobahőmérsékleten, viszonylag hígabb (0,1 mól) oldatokkal dolgozni. Az extrahálószer megválasztásánál a nyert nyerstermek: szürke és barna huminsavak, hymatome-lánsavak és fulvósavak, az extrahálószer bázisosságától és komplexképző képességétől függő abszolút mennyisége (lásd az 1/a táblázatot) mind a különböző mólsúly frakciók egymáshoz viszonyított mennyisége változott (lásd az 1/b táblázatot) [10, 19, 38].

Az 1/a táblázatból megállapítható, hogy az erősen bázisos extrahálószer, mint a nátrium-hidroxid és gyengén bázisos, egyben komplex képző, mint a nátrium-pirofoszfát, alkalmazásával jó szá-

melés nem a legtöményebb, hanem egy hígabb (2%-os) lúgoldat esetén tapasztalható. Ennek a jelenségnek az a magyarázata, hogy a töményebb lúg a nagyobb molekulásúlyú huminsav-részecskéket kisebb molekulásúlyú humuszanyagokra peptizálja, ill. degradálja. Ez a jelenség egyébként a kolloidkémiaiából ismert: a peptizáló hatás a peptizátor koncentrációjával maximum görbe szerint változik.

Nátrium-pirofoszfáttal történő feltárás során ilyen jelenséget nem tapasztaltunk, amit egyrészt azzal magyarázhatunk, hogy a nátrium-pirofoszfát degradáló, ill. peptizáló hatása mérsékeltebb a nátrium-hidroxidéhoz viszonyítva, másrészt azzal, hogy az alumínium(III)- és a vas(III)-, valamint a kalcium(II)-ionok, amelyek mind a kiindulási anyagban, mind a nyers huminsavakban előfordulnak, igen stabilis komplexet képeznek a pirofoszfát ionnal [12, 14, 34]. Végül a nátrium-pirofoszfátból nem készíthetők olyan tömény oldatok, mint a nátrium-hidroxidból.

Meg kell jegyeznünk, hogy más típusú rőzegekből, lignitből, barnaszeneből pirofoszfátos extrakcióval gyakran nagyobb huminsavhozam is elérhető (30%-on felüli), de ezek a huminsavminták, az előzőekben említettek alapján nagyobb hamutartalmúak, mint a nátrium-hidroxiddal extraháltak [25, 60]. A nátrium-karbonátnak mint bázisos extrahálószernek alkalmazása mérsékelt hatású, a nátrium-tetra-borát pedig igen minimális kitermelést eredményezett. E két feltárószer alkalmazása humuszanyagok kinyerésére nem gazdaságos.

A különböző extrahálószerrel nyert huminsav frakciók molekulásúly szerinti eloszlása géliszűrési módszerrel különbözőnek adódott (lásd az 1/b táblázatot). A nátrium-pirofoszfát extrahálószernek a jó hatásfoka főleg a kis molekulásúlyú frakciókra vonatkoztatva azzal értelmezhető, hogy az alumínium(III)- és a vas(III)-

1/a táblázat

**Huminsavak kitermelési százalékai a feltárószer koncentrációjának függvényében**

Koncentráció	Feltárószer			
	NaOH	Na <sub>4</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Na <sub>2</sub> B <sub>4</sub> O <sub>7</sub>
2 N	10,3	—	9,0	3,0
1 N	11,5	18,9	6,3	2,4
0,5 N	27,4	15,7	5,9	min.
0,25 N	13,2	9,5	4,6	min.
0,125 N	9,1	2,4	min.	min.

zalékos kitermelést lehet elérni. Az egyes extrahálószer koncentrációját illetően érdekes különbségek adódnak. Bármely extrahálószer kis koncentrációjánál a százalékos kitermelés is csekély, a nátrium-hidroxidnál azonban a maximális kiter-

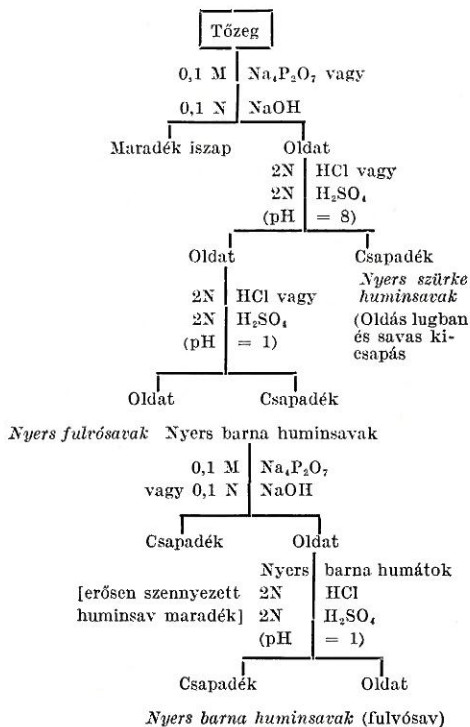
1/b táblázat

**Huminsavak molekulásúly szerinti eloszlása különböző extrahálószer alkalmazása esetén**

Extrahálószer	Adott mólsúlytartományban extrahált C %			
	Mólsúly: 4000	4000 - 9000	9000 - 100000	100000
0,1 M Na <sub>4</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	39	21	14	26
0,5 N NaOH	7	14	17	62
0,1 M NaHCO <sub>3</sub> + Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	10	1	16	73
0,1 M Na <sub>2</sub> B <sub>4</sub> O <sub>7</sub>	8	2	15	75
0,1 M NaF	12	3	23	62

igen stabilis komplexet képeznek a pirofoszfát ionnal, márpedig a kis molekulásúlyú frakciók a legnagyobb töltésű kationokhoz, így főként az alumínium és vas(III)-ionokhoz vannak kötve [60, 121, 123]. Az extrahálószer koncentrációjának a növekedésével általában csökken a molekulásúly.

A nátrium-pirofoszfáttal extrahált huminsavakat, melyek általában nagyobb hamutartalmúak, mint a nátrium-hidroxiddal extraháltak, és fehérjében szegényebbek, a továbbiakban a rövidség kedvéért *pirohuminsavaknak*, míg a nátrium-hidroxiddal nyerteket, nagy fehérjetartalmuk miatt *proteohuminsavaknak*, továbbá az ammónium-hidroxiddal kezelteteket az ammónia részbeni beépülése miatt *ammónium-huminsavaknak* [100], végül a salétromsavval feltártakat *nitro-huminsavaknak* [136] nevezzük. Az erős bázisokkal történő kilúgozást, centrifugálást, majd a lúgos oldatból a huminsavaknak erős ásványi savakkal történő kicsapását a következő vázlat szemlélteti:



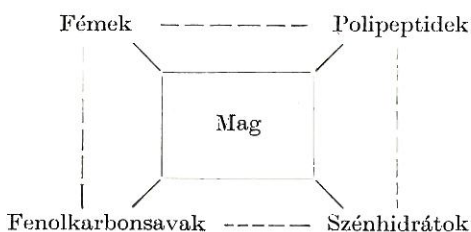
Ezek után nyers huminsavak előállításánál 1600 g (illetve 3000 g) légszáraz keszthelyi úsztatómajori tőzeget 5 dm<sup>3</sup>

0,5%-os nátrium-hidroxiddal (vagy 5 dm<sup>3</sup> 0,1 mólos nátrium-pirofoszfáttal) kb. 8 dm<sup>3</sup>-re feltöltöttük. A szuszpenziót 8 órán át, óránként 5 percig kavartuk, majd egy éjszakán át ülepedni hagytuk. A barna színű lúgos oldatot, a nem oldódott tőzegiszapról dekantáltuk, majd centrifugáltuk és üvegyapoton szűrtük. A tőzegiszapot egymás után még négyszer (illetve kétszer) friss 0,5%-os nátrium-hidroxiddal (illetve 5 dm<sup>3</sup> 0,1 M-os nátrium-pirofoszfáttal) 8 dm<sup>3</sup>-re feltöltöttük. A kioldást a fentiek szerint elvégezve a lúgos szüredékeket elegyítettük és 2 N sósav oldattal pH = 8-ra állítottuk (ill. pH = 7), majd 1–2 napig ülepedni hagytuk. A kivált szürke huminsavtól az oldatot centrifugálással, majd dekantálással különítettük el. Az oldatot 2 N sósav oldattal pH = 1-re savanyítottuk, majd 1–2 napig ülepedni hagytuk. A csapadékot centrifugálással különítettük el az oldattól, melyet fulvosavra dolgoztunk fel. A csapadékot 60 °C-on szárítottuk, finomra őröltük és 0,1 N sósavval mostuk, centrifugáltuk és szárítottuk. E mosási műveleteket összesen háromszor végeztük el. A további tisztításra kerülő anyagokat nem szárítottuk, csak nedvesen mostuk, majd a megfelelő lúgos oldószerrel oldatba vittük.

Az ecsédi lignit és a tatabányai barnaszén megfelelően szárított és porított mintáit lúgos feltárás előtt jelentős bitumen tartalmuk miatt benzol-alkohol 1 : 1 arányú oldószer elegyével Soxhlet készülékben extrahálni kellett. Az extraktiót akkor tekintettük befejezettnek, ha az oldószer szintelenül folyt le (kb. 8–10 óra). Az extrakt bitumen tartalom 7,4 ill. 10,1% volt. Az oldószer eltávolítása után a mintát hideg, 1 N sósavval kezeltük, majd forró vízzel átmostuk. Ezt a műveletet háromszor megismételtük. A kimosott anyagot nagy felesleg 0,5 N nátrium-hidroxiddal visszafolyós hűtővel ellátott lombikban három órán át forrásban levő vízfürdővel melegítettük. Az oldhatatlanul maradt résztől a lúgos oldatot szűrővel elválasztottuk, és a szűrletből a nyers barna huminsavakat tömény sósavval pH = 1-en leválasztottuk. Az oldatot centrifugáltuk, majd a kapott nyers barna huminsavakat savmentesre mostuk. Ismét nátrium-hidroxid oldattal oldottuk, majd sósavval kicsaptuk. A műveletet összesen háromszor ismételtük meg.

Mind a tőzegeből, mind a lignitből illetve a barnaszénből nyert nyers huminsavak a polinukleáris heteroaromás „magon” és a funkciós csoportokon kívül még több kísérő alkotórészt is tartalmaznak, melyet jól szemléltet a HAWORTH-féle séma [23]:





E kísérők eltávolítása nehéz feladat! Tömény 6 N sósavval ill. ásványi savakkal 105 °C-on történő több órás (48 h, ill. 72 h) hidrolízis ugyan eredményes, de a nyert ún. savforrált vagy *hidrolizált huminsav degradációt* szenved, miáltal kisebb molekulásúlyúvá is válik.

Kisebb molekulásúlyú huminsavak nyerhetők nyers barna huminsavakból mikrobiológiai úton is, mint pl. a *mycobacterium citreum* [48, 135] vagy penészgombatenyészet segítségével [18]. Az általunk előállított nyers barna pirohuminsavakon kb. 1 hónapos állás után kialakult penészgombatenyészet (főleg *Aspergillus*-félések; *Penicillium*, *Pseudomonas*, valamint *Arthrobacter* és *Actinomyces* mellett) feltehetően enzimatis úton (peroxidáz, lakkáz, polifenoloxidáz stb.) teljesen lebontotta a barna huminsavakat kisebb molsúlyú, két fő összetevőből álló huminsavvá ill. hymatomelánsavvá. A termék kis nitrogén tartalma (2,55%) és kis átlag molekulásúlya értéke ( $\bar{M} = 1100$ ) arra utal, hogy gombahuminsavak nem képződtek. Ezen anyag nagyobb molsúlyú fő komponensét (70%) megkülönböztetésül az extrahált barna huminsavaktól *fermentációs huminsavnak*, míg a kisebb molsúlyú komponensét (30%) *fermentációs hymatomelánsavnak* nevezzük (I. II. rész).

A hymatomelánsavak nyers barna huminsavakból poláris szerves oldószerekkel, mint alkoholok, aceton, dimetil-szűi foxid, dimetil-formamid, extrahálhatók. A készhelyi úsztatómajori sikláp tőzgeből nyert nyers barna huminsavakból 96%-os etil-alkohollal kb. 1% mennyiségben világos kávébarna színű hymatomelánsavakat sikerült nyernünk, ezek az ún. *extrahált hymatomelánsavak*.

A fulvósavak kinyerése a barna huminsavak kiválasztása utáni savas (pH = 1) oldatból négyféle után lehetséges: aktívzenes adszorpcióval, majd ammónium-hidroxidos leoldással [44, 55, 59, 140, 166], anioncserélő gyantán megkötéssel és nátrium-hidroxidos adszorpcióval [2, 82, 83, 84, 85, 96, 139, 164], majd n-butil-alkoholos extrakcióval [22, 112, 127, 128, 129], végül réz(II)-acetáttal történő

lecsapással és kénhidrogénes [80, 141], vagy az általunk alkalmazott ammónium-szulfidos felszabadítással, valamint butil-alkoholos extrakcióval.

Ezek után a módosított CHALUPA-ROCHUS módszerrel [22, 112] extraháltuk a fulvósavakat.

A 3000 g légszáraz tőzgeből lúgos feltárással nyert nyers barna huminsavak leválasztását 2 N kénsavval végeztük és a nyers fulvósavat tartalmazó pH = 1-es savanyúságú kb. 10 dm<sup>3</sup> oldathoz 2 dm<sup>3</sup> 0,5 M alumínium-szulfát oldatot adtunk, majd az elegyet tömény nátrium-hidroxiddal lassan, kevergetés közben semlegesítve, a leváló alumínium-hidroxid kvantitatíven lecsapja a fulvósavakat is. A kivált sárgás-fehér csapadékot kb. 10–12 óras állás után centrifugálással különítettük el és desztillált vízzel a szulfát-reakció megszüntéséig mostuk. Majd a csapadékot kb. 4 dm<sup>3</sup> 2 N kénsavban feloldottuk. A vizes oldat fölül kb. 15–20 térfogatszázalék n-butil-alkoholt rétegeztünk és a fulvósavak főtömegét átráztuk a normál butil-alkoholos fázisba. Az átrázást 9–10 térfogatszázalék tiszta n-butil-alkohollal néhányszor megismételtük, míg a savas, vizes fázis szintelen, ill. halvány szalmasárga színű lett. A vízzel telített kénsavas n-butil-alkoholos fázist bárium-hidroxid oldattal semlegesítettük és a kiváló bárium-szulfátot leszűrtük, ill. lecentrifugáltuk és az oldatot rotációs bepárlón bepároltuk. A kapott nyers fulvósav mennyisége kb. 6 g volt, ami 0,2%-os kitermelésnek felel meg.

A 2. táblázat tartalmazza a nyers huminsavak, hymatomelánsavak és fulvósavak analitikai adatait és a kitermelést.

A nagy izzítási maradék, a hamutartalom feltétlenül szükségessé tette az egyes minták tisztítását.

A leggyakrabban alkalmazott módszer a nyers huminsavaknak 60–70 °C-on történő szárítása, majd finomra őrlése után híg ásványi sávval pl. sósavval, kénsavval történő többszöri alapos keverés közben történő *mosása*, szobahőmérsékleten vagy 70 °C-on. Tapasztalataink szerint a mosások számának növelésével sem csökkenthető a hamutartalom 5–6% alá. *Dialízissel*, még többszöri alkalmazás esetén sem lehetett a fémionok nagyrészt eltávolítani a huminsavakból [47] csupán az anionok eltávolítására volt használható a módszer [107, 109].

*Elektrodialízis* háromszori alkalmazás után sem szállította le a hamutartalmat 1,5% alá [17, 24, 27, 121].

Gyakran alkalmazott módszer huminsavak tisztítására a *frakcionált lecsapós technika* [69, 70]. E szerint a lúgos oldatban levő huminsavakat híg sósavval,

2. táblázat

## Nyers tőzeg huminsavak és fulvósavak analitikai adatai

Minta jelzése	C	H	N	S	Cl*	O	Hamu	Kitermelt
	%							
Barna proteohuminsav I	40,9	5,06	2,82	1,8	2,1	35,2	12,1	3,0
Barna proteohuminsav II	44,6	5,61	3,0	1,7	1,6	37,4	6,1	3,0
Barna proteohuminsav III	41,7	4,66	4,8	1,9	2,1	37,4	7,4	4,3
Barna proteohuminsav IV	38,3	4,9	2,9	1,5	4,5	35,3	12,6	4,0
Barna proteohuminsav V	38,1	5,6	2,8	1,7	1,6	43,4	6,8	4,6
Barna proteohuminsav VI	44,0	4,8	3,2	nyom	1,6	37,2	9,2	3,2
Barna proteohuminsav VII	41,0	4,7	2,2	1,7	2,9	35,9	11,6	6,0**
Barna pirohuminsav I	36,0	6,81	2,45	1,7	2,0	28,6	22,5	18,2
Barna pirohuminsav II	37,1	5,19	1,75	1,6	1,6	34,0	18,6	10,8
Barna pirohuminsav III	32,5	3,41	2,2	1,5	1,9	35,0	23,5	21,0
Barna pirohuminsav IV	39,1	3,96	2,15	nyom	nyom	37,0	17,71	10,1
Barna pirohuminsav V	34,6	5,1	2,1	2,0	3,0	31,3	21,8	16,0
Szürke proteohuminsav	32,2	4,3	3,2	—	—	31,2	31,1	0,05
Szürke pirohuminsav	38,7	6,2	2,5	—	—	29,2	22,4	0,05
Fulvósav A <sub>0</sub> -szint	34,9	5,68	nyom	2,0	nyom	27,0	30,28	0,1
Fulvósav B <sub>n</sub> -szint	41,4	5,14	nyom	1,9	nyom	30,0	21,0	0,2

\* A Cl<sup>-</sup>-ion nem alkotórész, csak szennyező.

\*\* 24 órás állandó keverés mellett a kitermelés megnőtt.

vagy kénsavval, a pH megfelelő beállításával, csapják le, majd újraoldás után a lecsapást megismétlik. A hamutartalom így is csak néhány százalékra csökkenthető le.

Jobb eredményt lehetett elérni *ioncserélő gyanták* alkalmazásával [35, 45, 53, 89, 110]. Kb. 0,5–2%-os nyers huminsavakat tartalmazó semleges vagy gyengén lúgos oldatot először egy erősen bázisos hidroxid ciklusban levő gyantán (pl. Amberlite IRA-400) vezetünk át, amely a késérő anionokat cseréli le. Az anioncserélő gyanta csak elhanyagolhatóan kis mennyiséget kb. 0,015–0,025 g/dm<sup>3</sup> köt meg a huminsavakból. Az anioncserélő gyantáról lejövő oldatot erősen savas hidrogén ciklusban levő gyantára (pl. Amberlite IR-120) vezetjük. A gyanták regenerálása után a műveletet célszerű legalább egyszer megismételni. Az így nyert tiszta huminsav hamutartalma az irodalmi adatok szerint 1,6% [53], míg az általunk előállított 12,1% hamutartalmú nyers huminsavakból 2,1%, 2,2% és 1,5% hamutartalmú huminsav volt nyerhető.

Újabbban *kelát típusú gyanták* (mint a Dowex-A 1 és a Chelex-100, melyek iminodiacetát típusúak) alkalmazásával sem

sikerült a szervesetlen fémion szennyezések további csökkentése [106].

Felhasználták mind az ioncserélő, mind a kelát gyantákat a huminsavaknak a talajokból történő közvetlen kinyeréséhez is [13, 26, 117], de csak podzolok (B-horizont) esetén nyertek jelentős fémion szennyezés csökkentést [93, 161, 165].

Miután a kelát gyanták sem képesek a huminsavakat szennyező kationok egy részét visszatartani, a kutatók figyelme *kelát komplexképzők* felé fordult. Oxin [98, 104, 162] ditizon [65, 67, 97] kupferon [92] alkalmazása kb. 1–1,5%-ra csökkenti le a hamutartalmat, azonban a fölös komplexképző eltávolítása, pl. kloroformos kirázással vagy egyéb úton meglehetősen nehézkesé teszi az eljárás alkalmazását.

Etilén-diamin-tetraacetát (*EDTA*) vizes oldatát (4%-os, pH = 7) elsőnek DEVEL és munkatársai [28, 29, 30, 31] alkalmazták talajokból huminsavak és fulvósavak extrahálásához. Podzoloknál valóban kis hamutartalmú termékhez jutottak, azonban e közvetlen feltárásoknál viszonylag nagymennyiségű EDTA felhasználás volt szükséges, s ez nagyon drágítaná a műveletet.

Készthely környéki síkláp tőzeg nátrium-hidroxidos feltárásánál EDTA al-



3. táblázat

Nyers, barna huminsavak tisztítása 0,1 M  $\text{Na}_2\text{P}_2\text{O}_7$  + EDTÁ-s oldással és sósavas lecsapással

Anyag	Analízis %					
	Hamu	C	H	N	Cl	(O + egyéb)
Pirohuminsav IV	17,7 vörös	39,1	4,0	2,2	ny.	(37,0)
Egyszer tisztítva	10,8 rózsa	47,7	3,7	2,0	ny.	(35,8)
Kétszer tisztítva	7,7 szürke	52,2	3,9	1,9	ny.	(35,0)
Háromszor tisztítva	3,7 fehér	53,0	3,9	2,0	ny.	(37,4)

kalmazása 8,3%, 5,9%, 5,7% és 2% hamutartalmú nyers huminsavat eredményezett.

Kisebbségi EDTA felhasználása érdekében próbálkoztunk nyers huminsavaknak frakcionált oldásánál EDTA hozzáadásával.

0,1 M vizes nátrium-pirofoszfát oldatban oldott nyers barna pirohuminsavakhoz (IV. minta) pH = 5 értéknél egy órás intenzív keverés közben annyi EDTA-t adtunk amennyi a tiszta alumínium(III)-oxidnak tekintett hamutartalom háromszorosával egyenértékű. Egy éjszakai állás után az oldatból tömény sósavval pH = 2-nél leválasztottuk a barna huminsavakat. Miután a kicentrifugált és háromszor kimosott csapadék még nagy hamutartalmú volt (3. táblázat 2. sor), az egész tisztítási műveletet még kétszer megisméltük.

A barna pirohuminsavak hamutartalma (3. táblázat 3. és 4. sora) még mindig nagy volt, mivel a barna huminsavak kvantitatív leválasztásához szükséges pH = 2 értéknél a szennyező fémionok egy részével képződött fém-EDTA komplexek is részben elbomlanak és ismét szennyezik a leváló barna huminsavakat.

Miután 25%-os vizes ammónium-hidroxiddal viszonylag tiszta, kis hamutartalmú barna ammóniumhuminsavakat állítottunk elő, de gyenge kitermeléssel (0,057%), ezért a már 0,1 M nátrium-pirofoszfáttal extrahált nyers barna pirohuminsavakat ammónium-hidroxidos oldással próbáltuk megtisztítani. Amint a 4/a táblázatból látható, noha az ammónium-hidroxidos oldás már első alkalommal 1%-ra csökkentette a hamutartalmat, de a hamu sötétvörös színű volt, további ammónium-hidroxidos oldással is megmaradt a hamu hússzíne, ami összhang-

ban az emissziós analitikai vizsgálatokkal, jelentős átmeneti-fém szennyezésekre (pl. vas és mangán) utalt. Nem változtatott a hamu színén a 0,1 M nátrium-pirofoszfátos oldás sem (4/a táblázat utolsó sora), noha többszöri nátrium-pirofoszfátos újraoldás után nagy hamutartalmú, de fehér színű hamuhoz jutottunk (4/b táblázat). A nátrium-pirofoszfát jóval több kovaszavat, illetve szilikátot visz oldatba a tőzegeből, mint az ammónium-hidroxid és ezek savas kezelésekor a barna pirohuminsavakkal ismét lecsapódnak, tehát azokat szennyezve izzítás után jelentős mennyiségű hamut eredményeznek. Viszont a nátrium-pirofoszfát erős komplexképző hatása miatt a tisztított anyag hamuja fehér, vagy halványoszürke színű lesz.

Ha a nyers barna pirohuminsavak ammónium-hidroxidos oldatát EDTA-val kezeltük, és egy éjszakai állás után tömény sósavval leválasztottuk az ammónium-pirohuminsavakat, akkor sem értünk el jobb eredményt (4/c táblázat).

Végül a nyers, barna pirohuminsavakat először ammónium-hidroxidban, majd savas kicsapás után nátrium-pirofoszfátban oldottuk, ismét savas lecsapás után ammónium-hidroxidban oldva EDTA-val kezeltük. Egy éjszakai állás után a huminsavat savval kicsaptuk, ammónium-hidroxidban oldottuk és ismételt savas lecsapás után hétszer mostuk. A 4/d táblázatban látható eredmények fehérszínű és az emissziós analízis adatai szerint (5. táblázat) már elfogadhatóan fénymentes barna ammónium-pirohuminsavakhoz vezettek. A kitermelés 2,5% volt.

Hasonlóan tisztítottuk meg a nyers, kis molsúlyú fermentációs humin- és hymatomelánsavat is 0,1 M nátrium-pirofoszfátos oldással és EDTA-val. A nyert tiszta

## 4. táblázat

A nyers barna pirohuminsavak frakcionált oldása  
25%-os  $\text{NH}_4\text{OH}$ -val ill., 0,1 M  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ -tal szobahőmérsékleten

Frakcionált oldás	Analízis %						
	Hamu színe	C	H	N	S	Cl	(O + egyéb)
Pirohuminsav V.	21,8 sötétvörös	34,6	5,1	2,1	2,0	3,0	(31,3)
4/a.							
1. $\text{NH}_4\text{OH}$ oldás	1,1 vörös	40,0	4,5	6,0	2,1	7,0	(39,3)
2. $\text{NH}_4\text{OH}$ oldás	0,83 vörös	35,6	5,2	5,9	2,3	7,1	(42,8)
3. $\text{NH}_4\text{OH}$ oldás	0,48 hússz.	47,0	3,6	5,3	2,4	7,8	(37,3)
4. $\text{NH}_4\text{OH}$ oldás	0,38 rózsa	36,8	4,2	9,9	2,3	16,8	(29,6)
5. $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ oldás	0,82 drapp	46,5	3,4	4,9	2,7	3,3	(39,3)
4/b.							
1. $\text{NH}_4\text{OH}$ oldás	3,67 vörös	39,7	4,1	2,0			(50,6)
2. $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ oldás	8,1 fehér fek. p.	43,8	3,2	2,1			(42,8)
3. $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ oldás	8,37 fehér fek. p.	44,9	3,2	1,9			(41,7)
4. $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ oldás	7,41 szürk. fehér	49,5	3,2	2,0	2,3		(35,7)
5. $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ oldás	6,29 fehér	48,5	3,0	2,0	2,3		(37,9)
4/c.							
1. $\text{NH}_4\text{OH}$ oldás	3,67 vörös	39,7	4,1	2,0			(50,6)
2. EDTA kezelés	1,49 vörösbarna	49,1	3,6	1,9			(45,9)
3. $\text{NH}_4\text{OH}$ oldás	2,9 drapp	46,2	3,5	2,0			(47,4)
4. $\text{NH}_4\text{OH}$ oldás	2,62 világos drapp	44,4	3,9	2,1			(49,1)
4/d.							
Tiszta barna ammonpirohuminsav	2,3 fehér	51,5	3,9	3,5	2,2	0,9	(35,8)



5. táblázat

A hamu emissziós analízisének eredménye súly%-ban

Elem	Súly %	Elem	Súly %
Fe	$1 \cdot 10^{-5}$	Ti, B	$10^{-2}$
Cu	$2 \cdot 10^{-4}$	Ca, Mg, Al	$10^{-1}$
Co	$1 \cdot 10^{-3}$	P	1-10
Mn, Na, Cr	$10^{-3}$	Si	tizes

fermentációs humin- és hmatomelánsavak analízis adatait a 6. táblázat tartalmazza.

Miután a frakcionált lecsapásos módszer EDTA-s kezeléssel kombinálva a számos mosás, szűrés, illetve centrifugálás miatt igen hosszadalmas, körülményes, célszerűtlen ki egy egyszerűbb, gazdaságos, iparilag is könnyen kivihető és egyben hatékony tisztítási módszer kidolgozását. Erre legalkalmasabbnak a kombinált EDTA-s kezelés és az ezt követő ioncserélős gyantás tisztítási módszer bizonyult.

A nyers barna huminsavakból (kb. 600 g) 0,5%-os nátrium-hidroxiddal, vagy 0,1 M nátrium-pirofoszfáttal 1-2%-os (min. 0,5% és max. 5%) oldatot készítettünk, és pH = 5-6-ra állítottuk, majd a tiszta alumíniumoxidnak tekintett hamutartalom háromszorosával egyenértékű 0,1 M-os EDTA oldatot adtuk hozzá. Az oldatot intenzív keverés közben 48 óráig hagytuk reagálni, hogy ezalatt a fémion szennyezéseket az EDTA komplexbe vegye. Ezután hidroxid-ciklusú erősen bázisos Amberlite IRA-400 anioncserélő gyanta oszlopon (35 mm Ø és 560 mm magas) engedték át, 500 cm<sup>3</sup>/h átfolyási sebességgel. A gyanta az anionokat, valamint a fölös EDTA anionokat és a fém-

EDTA anionos komplexeket hidroxilonra cserélte. Ezután az oldatot az oszlophoz közvetlenül kapcsolt hidrogénciklusú erősen savas Amberlite IR-120 kationcserélő gyantaoszlopra (50 mm Ø és 400 mm magas) vittük, az előző átfolyási sebességgel. Ekkor az összes kation hidrogénionra cserélődött és a gyantáról pH = 2,7 tiszta huminsav oldat csepegett le, melyet ezután liofilizáltunk.

A kapott minták analízis eredményeit a 7. táblázat tartalmazza, ahol a minták római számai azt jelzik, hogy melyik nyers huminsav mintát tisztítottuk.

Ha az ioncserélő gyantával történő tisztítást kétszer alkalmaztuk, egyszer az EDTA-val való kezelés előtt, egyszer pedig utána, akkor sikerült olymértékben megtisztítani a barna huminsavakat, hogy az izzításuk után nyert maradék, a hamutartalom már 1% alá csökkent. A kapott termékek analízis adatait a 7. táblázat utolsó két sora tartalmazza. A hamu emissziós analízis eredményeit a 8. táblázatban foglaltuk össze.

A fémnyommentesítés ezek után már elegendőnek látszott, ha figyelembe vesszük az egyes cégek által előállított huminsavak hamutartalmát (9. táblázat), valamint a későbbiek során alkalmazott pro anal. tisztaságú reagensek szennyezéseit.

A proteohuminsavaknál a viszonylag nagy nitrogéntartalom jelentős mennyiségű polipeptid jelenlétére mutatott, melyet csak tömény savas hidrolízissel lehetett teljesen eltávolítani. E polipeptidek sem frakcionált, különböző pH-jú oldással és lecsapással, sem kétértékű (pl. kalcium) vagy többértékű (pl. vas, vagy alumínium) fémionokkal dotált oldhatatlan csapadék formájában lecsapva nem választhatók el [138]! Telített, vizes nátrium-szulfát oldattal történő frakcionált lecsapásnál a könnyebben kimosható frakciók valamivel több polipeptidet tartalmaztak, de nem

6. táblázat

Tiszta fermentációs huminsav és hmatomelánsav, valamint fulvósav analitikai adatai

Minta	Analízis %						(O = egyéb)
	Hamu színe	C	H	Cl	S	N	
Fermentációs humin és hmatomelánsav	1,22	43,5	4,4	0,9	0,5	2,5	(47,0)
Extrahált hmatomelánsav	h. sárga	52,2	5,8	nyom	nyom	2,1	(40,0)
	h. drapp						
Fulvósav	1,43 fehér	38,0	5,6	nyom	3,0	nyom	(52,0)

7. táblázat

## EDTÁ-val kezelt és ioncseréléssel tisztított barna huminsavak analitikai adatai

Kiindulási nyers huminsav	Hamu	C	H	N	S	Cl	(O)	Minta jelzése
	%							
Proteohum. I	2,0	42,9	4,9	2,9	1,8	ny.	45,5	Proteohum. I'
Proteohum. II	3,7	42,6	4,1	3,0	1,7	ny.	44,9	Proteohum. II''
Proteohum. III	1,5	43,8	4,2	4,8	2,1	ny.	43,6	Proteohum. III''
Proteohum. I + II + III	1,1	49,4	4,8	2,4	2,1	ny.	40,2	Proteohum. VI'
Proteohum. IV	1,2	50,0	4,0	2,9	1,5	ny.	40,4	Proteohum. IV'
Proteohum. IV + V	1,8	46,8	4,8	3,2	1,7	ny.	44,5	Proteohum. V'
Proteohum. VI + VII	3,4	48,0	4,8	3,3	1,5	ny.	39,0	Proteohum. VII'
Proteohum. I'	0,9	54,4	5,1	2,0	1,5	ny.	36,0	Proteohum. I''
Pirohum. II'	0,8	47,5	4,0	1,8	1,6	ny.	45,1	Pirohum. II''

olyan mértékben, hogy ezzel jelentős elválasztást lehetett volna elérni [138].

A légszáras mintákat 6 N sósavval 105 °C-on, 48 órán keresztül nitrogén atmoszférában hidrolizáltuk, majd vákuumszekrényben 70 °C-on foszfor-pentoxid és szilárd kálium-hidroxid jelenétében szárítottuk és savmentesítettük. A savmentes száraz maradékot 5 cm<sup>3</sup> 0,2 M nátrium-kloridot tartalmazó 0,01 N sósavban oldottuk, szűrtük és aminosav analízátorral (Beckmann Unicrom) egy oszlopos három pufferes módszerrel analizáltuk (Dévényi Tibor). Az eredmények a 10. táblázatban látható aminosav összetételhez vezettek.

Természetesen ilyen durva roncsolás nemcsak a polipeptideket hidrolizálja, hanem egyéb jelentős változást is okoz, így kb. 20% súlyvesztést, 50% metoxi-csoport csökkenést, és ~100% kinon csoport csökkenést. Az egyes hamu alkotórészek, a fémoxidok mennyisége csökken ugyan, de a jelentős összsúlycsökkenés miatt végeredményben a hamu százalékos

mennyisége nőhet. A kiindulási és a kapott termékek analízis adatait a 11. táblázat tartalmazza.

A hidrolizált huminsavval végzett Molish reakció, valamint a vas(III)-kloridos próba negatív volta arra mutatott, hogy a hidrolizált termék gyakorlatilag mentes szénhidrátoktól és fenolkarbonsav típusú kísérőktől.

Tiszta, fémnyommentes fulvósavak előállítására céljából a nyers fulvósavakat 0,1 M réz(II)-acetát oldattal réz(II)-fulvát alakjában lecsaptuk, majd vizes ammónium-hidroxidban oldva ammónium-szulfiddal a réz(II)- és a szennyező fém-szulfidokat lecsaptuk. Az oldatot pH = 1-re savanyítottuk, a kivált ként leszűrtük, majd normál butil-alkohollal extraháltuk és végül bepároltuk. A kapott termék analitikai adatai (6. táblázat) tiszta, kis hamutartalmú fulvósavra mutattak.

## 2. Fém-humuszanyag rendszerek

Huminsavak, hymatomelánsavak és fulvósavak fémionokkal alkotott vegyületeinek, sóinak, ill. komplexeinek előállítására négy módszert alkalmaztunk:

1. Neutralizációval állítottuk elő az alkáli fémhumátokat, hymatomelánátokat, és fulvátokat [68, 119, 122]. Tiszta huminsavat, melyet a hidrogén ciklusban levő kationcserélő gyantáról nyertünk, a megfelelő alkáli hidroxid vizes oldatával pH = 8-ra állítottuk. A nyert oldatot óvatosan betöményítettük, majd liofilizáltuk.

2. Csercsonkissal állítottuk elő a kétértékű alkáli földfém és a 3d-átmeneti fém humátokat, valamint az alumínium (III)-humátot [68, 119, 122]. A kéréses fémsó (szulfát, klorid, vagy acetát) kb. tízszeres feleslegű, 1 M-os oldatához

8. táblázat

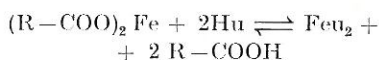
## A hamu néhány fémjének %-os mennyisége az emissziós analízis alapján

Hamu	Fulvósav	Proteohuminsav I''	Pirohuminsav II''
Hamu	1,43	0,9	0,8
Fe	1 · 10 <sup>-6</sup>	5 · 10 <sup>-3</sup>	1 · 10 <sup>-3</sup>
Cu	2 · 10 <sup>-3</sup>	1 · 10 <sup>-3</sup>	1 · 10 <sup>-3</sup>
Mn	1 · 10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-3</sup>
Co	1 · 10 <sup>-3</sup>	<10 <sup>-6</sup>	<10 <sup>-6</sup>
Ca,			
Mg,			
Al	10 <sup>-1</sup>	~10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-1</sup>



(200 cm<sup>3</sup>) szobahőmérsékleten előbb kristálygócok létrehozása céljából hirtelen zúdítva kb. 1 cm<sup>3</sup> 5%-os nátrium-humát oldatot öntöttünk, melyet előzőleg kb. 200 cm<sup>3</sup>-re hígítottunk, igen intenzív kevergetés közben. Mintegy 10 mp elteltével a maradék 5%-os nátrium-humát oldatot kb. 3-szorosára hígítva lassú egyenletes csepegtetéssel és állandó intenzív keverés közben adtuk a beoltott oldathoz. A kiindulási nátrium-humát pH értékét mindig kisebbre állítottuk, mint a kördéses fém-hidroxid leválási pH értéke, és így a nyert, durva vizes szuszpenzió pH-ja is mindig kisebb lett. A rendszer keverését kb. 1 órán át folytattuk, majd a durva szuszpenziót lezárt edényben egy hétig szobahőmérsékleten ülepedni hagytuk. Ezután a csapadékot lecentrifugáltuk, hideg deszt. vízzel kimostuk, majd foszforpentoxidos exszikkátorban súlyállandóságig szárítottuk. E módszer előnye egyszerűsége, hátránya, hogy az előállított fémhumát tartalmazni fogja egyrészt a leválasztási pH-tól függően a hidrogénionokat, mivel a leválasztási pH értékek, melyek a fémhidroxidok leválási pH értékénél mindig kisebbek, savas tartományban vannak; másrészt a humát mellékationját, a fenti példában a nátriumiont. Természetesen, minél nagyobb a leválasztási pH értéke, annál kevesebb a nem helyettesített hidrogénion, de annál több a mellékion, pl. a nátriumion. Mellékionoktól általában pedig idegen ionoktól mentes fémhumátok előállítása a 3. módszerrel [115, 116, 117] lehetséges.

3. Ioncserélő gyantás módszerrel bármely fémionnal dotált humuszanyag előállítható. Karboxil típusú gyantát telíteni kell a megfelelő fémionnal, majd statikus vagy dinamikus rendszerben reagáltatni a tisztított huminsav oldattal:



egyenletnek megfelelően, ahol Hu a huminsav, u a humátanion.

A reakció kivitele a következő: kb. 10 cm<sup>3</sup> gyenge savas, karboxil típusú (Duolit CS 101 vagy Amberlite IRC 50) H<sup>+</sup> ciklusban levő gyantát a kérdéscs fém só 0,1 M-os vizes oldatával telítettünk, a hidrogénionok teljes lecseréléséig. A fémionnal telített gyantát kimossuk és kevés desztillált vízbe szuszpendáljuk, majd intenzív keverés közben hozzácsepegtetünk 100 cm<sup>3</sup>, a hidrogénciklusban levő, erősen savas (Amberlite IR-120) gyantáról nyert kétszer ioncserélt 1%-os tiszta pirohuminsav oldatot (pH = 2,7). E statikus rendszert 24 óráig keverjük, majd egy

G3-as üvegszűrő segítségével elválasztjuk a gyantát a fémhumát szuszpenziótól. A szuszpenziót tartalmazó oldatot bepároljuk, majd liofilizáljuk. Dinamikus rendszerrel is dolgozhatunk, amikor is a fém-mel telített gyanta oszlopon keresztül nagyon lassan csepegtetjük át a tiszta huminsav oldatot.

4. In statu nascendi állapotban levő fémion reagáltatása humuszanyagokkal, ill. huminsavakkal abban az esetben célszerű, ha a fémion renyhe, nehezen reagáló akvo-komplexet alkot, mint pl. a króm(III)-ion esetében. A króm(III)-hexakvo komplex ion nehezen reagál huminsavval. Egy hétig tartó állandó keverés közben szobahőmérsékletű reakcióval is csak nyomokban történő, ÉSR-rel kimutatható (l. a Biopolimer fémkomplex rendszerek IV. rész) bekötést értünk el. Ezzel szemben kromát ill. bikromát ionok erősen savas közegben, szobahőmérsékleten huminsavak jelenlétében erős redukálószerrel, pl. hidrazinnal úgy redukálhatók króm(III)-á, hogy közben a króm(III)-ion kvantitatíven beköt a jelenlevő huminsavakhoz. Ez a kvantitatív bekötés csak abban az esetben jön létre, ha előzőleg a huminsav oldatot a fölösből alkalmazott kénsavas bikromát oldattal elegyítettük, és ezután — kb. 1 perc elteltével — ehhez az elegyhez feleslegben hidrazin-szulfát oldatot adtunk. A huminsav és a hidrazin-szulfát elegyéhez, mind hidegen, mind melegen öntött savas bikromát oldat csak nyomnyi króm(III)-ion bekötését eredményezte, éppúgy, mint a króm(III)-sókkal történő reakció esetén.

A 0,1 g huminsavat 3 cm<sup>3</sup> telített alkáli hidroxiddal feloldottuk, majd kénsavval pH = 6-ra savanyítottuk az oldatot. Ehhez 3 cm<sup>3</sup> 0,1 M kálium-bikromát oldatot adtunk, majd 1,5 cm<sup>3</sup> 1 N kénsavat és jól összeráztuk a rendszert. 1 perc elteltével 5 cm<sup>3</sup> 0,1 M hidrazin-szulfát vizes oldatát öntöttük hozzá. Az elegyet (pH = 3) egy éjszaka szobahőmérsékleten állni hagytuk, majd centrifugáltuk, mos-tuk és szárítottuk.

Néhány fémhumát analitikai adatait a 12. táblázat tartalmazza.

### Vizsgálati eredmények és azok értékelése

Vizsgálataink alapján sikerült a hazai sikláp tőzegek közül (13. táblázat) a jóminőségű keszthelyi úsztatómajori tőzegeből ipari megvalósításra is alkalmas eljárással tiszta barna huminsavakat előállítani. A lúgos feltárás előnyei lehetővé tették számos szennyezés, bitumenek, poliszaharidák, hemicellulóz eltávolítását

9. táblázat

## A kereskedelmi huminsavak analízis adatai

Minta	Hamu	C	H	N	(O)
	%				
MERCK huminsav	3,4	55,1	4,8	1,8	35,0
FLUKA huminsav	10,8	52,6	6,1	—	30,7
RIEDEL de HAEN huminsav	5,2	54	5,4	—	35,4

10. táblázat

## Tőzeg huminsavak és különböző takarmánytípusok aminosav összetétele a mért aminosavak százalékában

Aminosav	Keszthelyi tőzeg	Proteo-huminsav	Piroammon-huminsav	Élesztőgyári torula [7]	Vegyes húsliszt [7]
Lys.	4,5	6,0	4,5	7,2	4,0
His.	2,0	1,7	2,1	2,5	2,0
Arg.	3,3	4,6	5,8	4,2	5,3
Asp.	16,9	17,2	16,0	—	—
Thr.	7,1	6,0	2,4	4,8	4,4
Ser.	5,2	4,6	1,6	—	—
Glu.	13,1	13,5	13,4	10,3	10,0
Pro.	3,9	4,2	7,6	—	—
Gly.	10,4	9,8	11,8	3,6	16,1
Ala.	8,4	5,6	7,1	—	—
Val.	7,8	7,4	6,3	3,9	6,2
Met.	1,9	1,8	nyom.*	0,8	1,3
Ile.	5,2	6,0	6,8	3,6	3,9
Leu.	7,1	7,9	10,2	7,2	8,4
Tyr.	1,3	nyom.*	nyom.*	—	—
Phe.	3,9	4,6	4,7	4,8	5,0
Össz nitrogén	2,0	4,8	3,5	7,5	3,5
$\alpha$ -nitrogén	1,4	4,7	0,6	—	—
Fehérje	8,75	30	3,8	47,2	21,5

\* A lúgos kivonásnál elbomlik.

11. táblázat

## A hidrolízis előtti proteohuminsav és hidrolizált huminsav analitikai adatai

Anyag	C	H	N	S	Cl	O	Hamu	OCH <sub>3</sub>	Kinon	Össz-sav	Karboxil
	%							mekv/g			
Proteo-huminsav VII'	48,0	4,8	3,3	1,5	nyom	39,0	3,4	2,5	1,9	4,2	2,0
Hidrolizált huminsav	48,8	4,5	1,8	1,9	1,6	36,0	4,6	1,4	0,0	8,4	4,8



12. táblázat  
Fémhumátok analitikai adatai

Anyag	Fém	C	H	N	S	Cl	(O)
	%						
Vas(II)proteohumát	12,1	26,7	4,6	3,2	1,6	0,2	52
Vas(II)hidrolizált humát	11,8	36,7	3,4	1,1	1,1	0,1	46
Vas(II)pirohúmat	7,0	35,1	4,0	2,1	2,9	0,7	48
Vas(II)piro-ammonhumát	13,5	39,7	3,0	2,5	2,6	0,2	37,5
Réz(II)proteohumát	17,1	18,2	3,7	3,2	2,0	0,3	35,5
Réz(II)hidr.humát	14,3	39,3	3,2	1,2	1,9	0,2	40
Réz(II)pirohúmat	11,7	36,4	3,6	1,7	1,4	0,3	45
Réz(II)piro-ammonhumát	13,1	38,9	2,8	2,2	1,6	0,8	40
Kobalt(II)pirohúmat	4,7	35,2	3,9	1,8	0,9	2,2	51
Kobalt(II)piro-ammonhumát	8,3	39,0	3,5	2,4	1,3	3,4	42

anélkül, hogy jelentősebb degradáció következett volna be a kíméletes szobahőmérsékletű és 0,5%-os vizes nátriumhidroxiddal történő extrakció miatt. A kitermelés növelhető volt, ha állandó és intenzív keverést biztosítottunk, valamint, ha a lúg koncentrációját a kitermelés szempontjából optimális 2%-ra emeltük. Az utóbbi esetben azonban már el nem hanyagolható degradációval is kellett számolni. Forralás alkalmazása dekarboxileződés miatt csökkentette a karboxil tartalmat (átlagban 1 mekv/g-mal), éppen ezért az extrakciót szobahőmérsékleten végeztük el. Levegő átfúvatása vagy egyéb oxidálószerrel, pl. vizes hidrogén-peroxid alkalmazása nem emelték jelentősen a kitermelődést.

A tisztítási eljárások közül legjobban a komplexon III.-as (EDTA) anion és kationcserélő gyantás kombinált eljárás vált be. A nyert barna, piro- és proteohuminsavak (7. és 8. táblázat) hamu- és fémiontartalma elég kicsi ahhoz, hogy ezekkel a termékekkel fizikai és kémiai vizsgálatokat és fiziológiai kísérleteket végezhesünk.

A Keszthely környéki síkláp tőzegen és az egyéb hazai síkláp tőzegen, valamint az ezekből nyert barna proteohuminsavak fehérjéinek aminosav összetételét összehasonlítva más fehérjeforrásokéval (10. táblázat) megállapítható, hogy a síkláp tőzegen, ill. huminsavak ugyanazon jellegű fehérjét tartalmaznak, meglepően nagy lizin (0,25%–0,5%) légszáraz tő-

13. táblázat  
Hazai eredetű tisztított proteohuminsavak

Minta	Kiindulási anyag	Karboxil	Fenolos OH	Hamu	C	H	N
		mekv/g					
1.	Keszthelyi úszatómajori síkláptőzeg	4,0	4,8	1,8	46,8	4,8	3,2
2.	Ecsédi lignit	2,6	5,25	0,98	55,4	6,3	0,10
3.	Hévízi iszap	4,10	2,80	2,55	50,05	5,99	4,16
4.	Isaszegi tőzeg	5,03	2,98	1,36	55,69	5,87	2,05
5.	Ócsai tőzeg	5,55	3,15	4,62	48,02	5,61	2,07
6.	Pótréti szálas tőzeg	4,98	2,89	4,03	49,88	5,59	2,10
7.	Pótréti mart tőzeg	5,30	3,00	0,74	49,16	5,60	2,00
8.	Szélmezei kotrásos tőzeg	3,42	2,80	3,70	48,50	5,20	1,90
9.	Szélmezei mart tőzeg	3,27	2,75	4,42	47,73	5,05	1,98
10.	Vindornyaszőllős A-13 tőzeg	4,27	2,80	4,24	46,39	4,75	1,95
11.	Vindornyaszőllős RB-9 tőzeg	4,03	2,90	5,88	46,82	4,81	1,98
12.	Dudari 9/3 barnaszén	4,15	3,07	5,95	51,99	4,39	1,75
13.	Tatabányai 3/4 barnaszén	3,59	2,98	2,80	58,73	4,83	1,60

zetre vonatkoztatva, (ill. 4,5% relatív aminosav tartalommal) és a metionin (1,9% relatív tartalommal) és így átmenetet alkotnak a bakteriális és az állati fehérjék között. Ez a megállapítás összhangban van a proteohuminsavaknak a talajban történő mikrobiológiai eredetével. A tömény sósavas hidrolízis nemcsak a polipeptideket hidrolizálja le, de eltávolítja a maradék poliszaharidákat és fenolkarbonsavakat is. A visszamaradt hidrolizált huminsav, de a pirohuminsav is tartalmaz jelentékeny nem hidrolizálható nitrogént, mely — az irodalmi adatokkal [21, 40, 49, 71, 72, 73, 74, 75, 120] összhangban — integrális része a humuszanyagoknak. Ezek lehetnek a magban heterociklusos kötvé, vagy az aromás maghoz kondenzáltan kapcsolódva, esetleg Schiff-bázis kötésben [160]. A humuszanyagok ha változó mennyiségben is, de mindig tartalmaznak nitrogént, legkevésbé a lápvizek (fulvósav) néhány tized százalékot, a tözegek 0,4–6%-ig, a lignit és barnaszén 1–2%-ot, a talajok még többet. Talajokból papírkromatográfiás úton sikerült olyan humoproteineket is izolálni, melyek 11% és 14,8% nitrogént is tartalmaznak [131]. A kávé huminsavak 3,5–4,2% [6], míg a gombahuminsavak kb. 9% nitrogént [5] is tartalmazhatnak. Általában a humuszanyagokhoz kapcsolott nitrogénnek igen nagy a biológiai rezisztenciája és így nitrogénben szegényebb, teljesen fehérjementes huminsav magot is csak durva behatásokkal lehet előállítani. Ilyen pl. a tömény ásványi savas forralás, mely a fehérje és észterhidrolízis, valamint a mag aromás vázának felszakítása révén megnöveli a termék karboxilosortjainak számát és így az osszsavszámot (11. táblázat) és lecsökkenti a metoxi és kinon-csoportok számát.

Az ammóniával történt extrakció, ill. kezelés megnöveli a nitrogéntartalmat, mivel az ammónia reagál a huminsav egyes funkció csoportjaival, pl. oxo-csoporttal. A fermentációs huminsav kis nitrogéntartalma tette lehetővé többek között a gomba huminsavaktól történő elkülönítést.

A fémhumátok fém tartalma általában nő a pH növekedésével, mivel a humuszanyagok savas jellegű csoportjainak a disszociációja is növekszik. A megkötött fémionok mennyisége általában kisebb mint az osszsav kapacitás, mivel a maradék kapacitást nem szubsztituált hidrogénionok, valamint a jelenlévő mellék-kationok és az esetleges nyomnyi szennyező fémionok kötik le. A fémionok megkötése lehet ionos vagy kovalens, kelát-típusú kötés, amint ezt az infravörös

valamint az ESR és Mössbauer spektroszkópiai mérések és a stabilitási vizsgálatok is igazolták (Biopolimer-fém komplex rendszerek III–IV. rész).

A króm(III)-humát redukív úton történő előállításának megértéséhez meg kell említeni, hogy BECK és DURHAM [8] vizsgálták EDTA hatását a hidrazinkróm(VI) reakcióra és azt valószínűsítették, hogy első lépésben egy terner hidrazin-[króm(VI)]<sub>2</sub>-EDTA átmeneti komplex keletkezik. Feltehető, hogy a huminsavak esetében is a hasonló funkció csoportok miatt egy hidrazin-[króm(VI)]<sub>2</sub>-huminsav terner komplex jön létre, majd a reakció megtörténte után így már lehetőség nyílik a huminsavak funkció csoportjainak (karboxil, fenolos OH) további be-kötésére, ellentétben a koordinatívén jól árnyékolt króm(III)-hexaakvo-ionnal.

A humuszanyagok elem analizését és a funkció csoportok meghatározását a klasszikus mikro és félmikro analitikai módszerekkel végeztük [11]. A fémhumátokat és fulvátokat a Schulek-féle hidrogénhiperoxid és koncentrált kénsavas feltárással [33] vittük oldatba és a fém-tartalmakat komplexometriásan határoztuk meg [114].

Az általunk leírt extrakció tisztítási módszerek nemcsak a huminsavak fizikai és kémiai paramétereinek, ill. tulajdonságainak meghatározásához vezetnek, hanem lehetővé tették, vashiányos anémiákkal kapcsolatos vasszűzödési és raktározási [76, 154] valamint mikroelem-premix [90] kísérletek elvégzését.

E helyen is köszönetet mondunk a Chínoin Gyógyszer- és Vegyészeti Termékek Gyára vezetőségének, Dr. Mezey Barnának, Dr. Mészáros Zoltánnak és Bihari Istvánnak a témához nyújtott jelentős anyagi támogatásáért, valamint Dr. Vég Györgynek és Dr. Csucska Eleknek (Keszthely) értékes tanácsaiért és a tőzegginták rendelkezésre bocsátásáért. Ezenkívül köszönettel tartozunk Dr. Noszko László irányításával Dézsi Pál és Pál Iván, valamint Fritzsche Károlyné technikus munkájáért, Boromisszáné Dr. Vargha Évának számos elemi analízis, valamint Dr. Dévényi Tibornak az aminosav analízisek elvégzéséért.

### Ö s s z e f o g l a l á s

Sikerült híg vizes nátrium-hidroxid, ill. nátrium-pirofoszfátos szobahőmérsékletű feltárással és kation-anioncserélő gyanta, valamint EDTA kombinált alkalmazásával tisztá fémionmentes barna tőzegguminsavak előállítása. A kísérő fehérjék, poliszaharidák és fenolkarbonsav típusú vegyületek eltávolítása sósavas forralással történt. Mikrobiológiai úton nyertünk kismolekulású fermentációs huminsav és hmatomelánsav rendszert. A módosított Chalupa—Rochus módszer-



rel nyert fulvósavakat rézfulvát alakjában történt lecsapással, majd ammóniumsulfidos kezeléssel fémionmentesítettük. A legtisztább fémhumátok és fulvátok előállítására, tiszta humuszanyagok, valamint fémionnal telített karbonsav típusú gyanták reakciójának segítségével volt lehetséges. A humuszanyagok és a fémhumátok nagytisztaságú előállítása tette lehetővé az egyes frakciók fizikai és kémiai tulajdonságainak meghatározását, valamint fiziológiai kísérletek elvégzését.

### Irodalom

- [1] ABE, T.: Organic soil amendment from peat. Japan 7, 127, 328 (Cl. C. 057) 09 Aug. 1971 Appl. 66, 17910 05 May 1966.
- [2] AIBA, Y. & SATOH, Y.: Coagulation of organic color in natural water with aluminium chloride hydroxide I. Coagulation of fulvic acid. Kogyo Yosui (101) 55-59. 1967. (in Japan). (cf. C. A. 70. 109071v.) 1968.
- [3] ALBRECHT, W. A.: Trace minerals supplementation. Polled Hereford World Magazine, July 1953.
- [4] ASO, S. & SAKAI, I.: The physiological effects of humic acid I. Uptake of humic acid by crop plants and its physiological effects. Soil Sci. Plant Nutr. 9, 85-91. 1963.
- [5] AURICH, H. et al.: Stoffe von Huminsäure in Pilzen. Acta biol. med. german. 11, 311-317. 1963.
- [6] AURICH, H. et al.: Stoffe von Huminsäure in Röstkaffee-Extrakten II. Aminosäuregehalt von Kaffee-huminsäuren. Z. Lebensm.-Unters. Forsch. 135, 59-64. 1967.
- [7] Az Állategészségügyi Kutató Intézet adatai. Budapest. 1970.
- [8] BECK, M. T. & DURHAM, D. A.: The effect of EDTA on the hydrazine-chromium(VI) reaction. J. Inorg. Nucl. Chem. 33, 461-470. 1971.
- [9] BELÉK, S. et al.: A mikroelem felvételének tanulmányozása a keszthelyi rétlípon. I, II, III. Agrokémia és Talajtan 18, 263-288. 1969; 19, 27-38; 39-54. 1970.
- [10] BORATYNSKI, K. & WILK, K.: Investigation in complex use of different extractants [NaF (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>F<sub>2</sub>, Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, NaOH] for extraction of organic complexes from soil. "Studies about Humus". Trans. Intern. Symp. Humus et Planta III. Prague 27-42. 1961.
- [11] BOROMISSZÁNÉ, VARGA, É.: A huminsav-analítika néhány problémája. Magy. Kém. Lapja. 27, 445-455. 1972.
- [12] BREMNER, J. M. et al.: Metallo-organic Complexes in Soil. Nature. 158, 760-761. 1946.
- [13] BREMNER, J. M. & HO, C. L.: Use of Dowex A-1 chelating resin for extraction of soil organic matter. Dep. Agron. Iowa State Univ. Ames. 1962.
- [14] BREMNER, J. M. & LEES, H.: Studies on soil organic matter II. The extraction of organic matter from soil by neutral reagents. J. Agric. Sci. 39, 274-279. 1949.
- [15] BRUSSETT, H. & MARTIN-LEFEVRE, C.: Mise au point sur les acides humiques. Chim. Ind.-Gen. Chim. 98, (2) 1-11. 1967.
- [16] BURDICK, E. M.: Treating humous materials especially for use as soil conditioners and fertilizers. U. S.: 2, 992, 093 July 11, 1961; (cf. C. A. 55. 27747a/1961).
- [17] BURGESS, A.: Physico-chemical investigation of humic acid. Trans. 7th Intern. Congr. Soil Sci. Madison. 2, 128-133. 1960.
- [18] BURGESS, A. & LATTEK, P.: Decomposition of humic acid by fungi. Nature. 186, 404-405. 1960.
- [19] BUTLER, J. H. A. & LADD, J. N.: Effect of extractant and molecular size on the optical and chemical properties of soil humic acids. Austr. J. Sci. Res. 7, 229-39. 1967.
- [20] BUTLER, J. H. A. & LADD, J. N.: The effect of methylation of humic acids on their influence on proteolytic enzyme activity. Austr. J. Soil Res. 7, 263-8. 1969.
- [21] BUTLER, J. H. A. & LADD, J. N.: Importance of the molecular weight of humic and fulvic acids in determining their effects on protease activity. Soil Biol. Biochem. 3, 249-257. 1971.
- [22] CHALUPA, J.: Humic substances in peat waters. Int. Verh. Theor. Angew. Limnol. Verh. 16, 485-489., 489-490. 1965.
- [23] CHESHIRE, M. V. et al.: Humic acid II. Structure of humic acids. Tetrahedron. 23, 1669-1682. 1967.
- [24] DORMAAR, J. F.: Infrared absorption spectra of mineral matter derived from electrodyalysed humic acids. Geoderma. 1, 131-138. 1967.
- [25] DORMAAR, J. F.: Chemical properties of organic matter extracted from a number of A<sub>h</sub> horizons by a number of methods. Canad. J. Soil Sci. 52, 67-77. 1972.
- [26] DORMAAR, J. F.: Chemical properties of organic matter extracted from a number of A<sub>h</sub> horizons by a number of methods. Canad. J. Soil Sci. 52, 67-77. 1972.
- [27] DROZD, J.: Physico-chemical properties of humic substances of some soils utilized differently. Polish J. Soil Sci. 4, (1) 21-27. 1971.
- [28] DUBACH, P. et al.: Extraction of humic substances and isolation of the fulvic acid fraction from various soil types. Z. Pflernähr. Düng. Bodenk. 102, 1-7. 1963.
- [29] DUBACH, P. et al.: Chemical investigation of soil humic substances. Geochim. Cosmochim. Acta 28, 1567-78. 1964.
- [30] DUBACH, P., MEHTA, N. C. & DEUEL, H.: The extraction of humic materials from the B horizon of a podzol with EDTA acid. Z. Pflernähr. Düng. Bodenk. 95, 119-23. 1961.
- [31] DUBACH, P. & MEHTA, N. C.: The chemistry of soil humic substances. Soils & Fert. 26, 293. 1963.
- [32] DJAKONOVA, K. B.: Zselezogumuszevűe komplexszű i ih rol' v pitanii raszteni. Poczovodenie (7) 19-25. 1962.
- [33] ERDEY, L.: Bevezetés a kémiai analízisbe. Térfigatos analízis. Tankönyvkiadó. Budapest. 1958.
- [34] EVANS, L. T.: The use of chelating reagents and alkaline solutions in soil organic matter extraction. J. Soil Sci. 10, 110-118. 1959.
- [35] EVANS, L. T. & RUSSELL, W. E.: The adsorption of humic and fulvic acids by clays. J. Soil Sci. 10, 119-132. 1959.
- [36] FEKETE, Z., HARGITAI, L. & ZSOLDOS, L.: Talajtan és agrokémia. Mezőgazd. Kiadó. Budapest. 1967.
- [37] FELBECK, JR. G. T.: Structural hypothesis of soil humic acids. Soil Sci. 111, 42-48. 1971.
- [38] FERRARI, G., DELL'AGNOLA, G. & MAGGIONI, A.: The contribution of gel-filtration to the characterization of soil humic substances. Studies about Humus. Trans. Intern. Symp. Humus et Planta IV. Prague. Sec. B. 117-120. 1967.
- [39] FISCHER, W.: Zur Kenntnis der chemischen Zusammensetzung von Torfen aus Vorkommen in der DDR. VIII. Differenzierte Fraktionierung eines stark zersetzten Hochmoortorfes. Bergbau-technik 17, (1) 43-49. 1967.
- [40] FLAIG, W.: The chemistry of humic substances. FAO/IAEA Tech. Meet. Brunswick-Völkenrode 103-127. 1963.
- [41] FLAIG, W.: On the influence of humic substances on plant metabolism. (in Russ.) Report on the Intern. Peat Congr. Leningrad. 1963.
- [42] FLAIG, W.: Uptake of organic substances from soil organic matter by plant and their influence on metabolism. Pontificae Acad. Sci. Scripta Varia (Vaticana) 32, 1-48. 1968.
- [43] FLAIG, W. et al.: Über die Einwirkung von chemischen Verwandten von Huminsäurevorstufen auf das Längerwachstum von Wurzeln. Landbouwk. Tijdschr. 66, 365-70. 1954.

- [44] FORSYTH, W. G. C.: Studies on the more soluble complexes of soil organic matter. I. A method of fractionation. *Biochem. J.* 41. 176—181. 1947.
- [45] GAWRONSKI, E. & GLINSKI, J.: Metallic elements in soil preparations of humic acids and their fractions. *Polish J. Soil Sci.* 2. (1). 3—13. 1969.
- [46] GESSERT, C. F. et al.: Concentration of certain minerals in the blood and livers of cattle as related to trace mineral supplementation and bovine brucellosis. *J. Dairy Sci.* 34. 396. 1951. 35. 693—698. 1952.
- [47] GONZALES, A. & HUBERT, G.: Propriétés chimiques et physiques de la matière organique nondialysable extraite de quatre podzols du Québec. *Canad. J. Soil Sci.* 52. 1—17. 1972.
- [48] GORDIENKO, S. A. et al.: Decomposition of metal-humic acid complexes by microorganisms. *Symp. Biol. Hung. Proc. Symp. Soil Microbiol. Budapest.* 191—195. Akad. Kiadó. Budapest. 1972.
- [49] GRIBBANE, P. G., AMATO, M. & LADD, J. N.: Gas chromatographic analysis of amino acids from the action of proteolytic enzymes on soil humic acids. *Soil Biol. Biochem.* 4. 51—61. 1972.
- [50] GROSSKINSKY, O. et al.: Humic acid mixture. *Ger. 803,836 Apr.* 12,1951. (Cl 120.11) cf. C. A. 46. 10588 f. 1951.
- [51] HEINRICH, G.: Huminsäure und Permeabilität. *Protoplasma* 58. 402—425. 1964.
- [52] HIDAKA, T. et al.: Organic fertilizer. *Japan* 180,126 Sept. 1949.
- [53] HORI, S. & OKUDA, A.: Purification of humic acid by the use of ion exchange resin. *Soil Sci. Plant-Nutr.* 7. 4. 1961.
- [54] IZQUIERDO, F. J.: Complex organo-mineral fertilizers based on humic acid salts. *Span.* 359097 (Cl. C O 5f) 01. Dec. 1971. *Appl.* 359,094, 11 Oct. 1968; (cf. C. A. 77. 37378j.) 1971.
- [55] JANCIC, S.: Contribution to adsorption method of fractioning organic substances of soil. *Roczn. Glebozn.* 21. 515—524. 1970.
- [56] KABAR, Z.: Tőzeg huminsavak mennyiségi meghatározása. *Agrokémia és Talajtan* 6. 189—192. 1957.
- [57] KARCHER, J. C. & CANFIELD, C. L.: Ammonium humate fertilizer. *U. S.* 3,111,404 (Cl. 71—24) Nov. 19. 1963. *Appl.* Nov. 6. 1961.
- [58] KARCHER, J. P. & LYNN, P. P.: Humic acid heat sink *U. S.* 3,308,578 (Cl. 47—9) March 14, 1967. *Appl.* July 19, 1965. (cf. C. A. 66. 115014n) 1967.
- [59] KARPUHIN, A. I. & FOKIN, A. D.: Hromatografi-cseszkoe frakcionirovanie ful'vokislot. *Izv. TSZHA* (5) 139—146. 1969.
- [60] MCKEAGUE, J. M.: Humic-fulvic acid ratio, Al, Fe and C in pyrophosphate extracts as criteria of A and B horizons. *Canad. J. Soil Sci.* 48. 27—35. 1968.
- [61] KHAN, S. U.: Distribution and characteristics of organic matter extracted from the black solonchic and black chernozemic soils of Alberta: the humic acid fraction. *Soil Sci.* 112. 401—409. 1971.
- [62] KRISTYEVA, L. A.: Guminovűje udobrenija, teorija i praktika ih primenenija. *Szel'hozizdat.* 2. Kiev. 1963.
- [63] KRISTYEVA, L. A.: About the nature of physiologically active substances of the soil humus and of organic fertilizers and their agricultural importance. *Pontificae Acad. Sci. Scripta Varia (Vaticana)* 32. 701—21. 1968.
- [64] KICKUTH, R., ALDAG, R. & SCHEFFER, F.: Mobilisierung von Mikronährstoffen durch chelatative Substanzen aus dem Wurzelraum landwirtschaftlicher Nutzpflanzen. *Trans. 8th Intern. Congr. Soil Sci. Bucharest.* 4. 1117—1123. 1964.
- [65] KLÖCKING, R. et al.: Stoffe von Huminsäuretyp in Röstkaffee-Extrakten I. Nachweis, quantitative Bestimmung und Isolierung von Kaffee-Huminsäuren. *Z. Lebensm.-Unters. Forsch.* 135. 1—9. 1967.
- [66] KLÖCKING, R. et al.: Zur Biochemie der Huminsäuren V. Die Bindung der Huminsäuren an Serumproteine in vitro (Qualitative und halb-quantitative elektrophoretische Untersuchungen). *Acta biol. med. german.* 18. 9—13. 1967.
- [67] KLÖCKING, R. & MÜCKE, D.: Isolierung wasserlöslicher Huminsäuren (Fulvosäuren) aus ihren Blei (II) Chelatverbindungen. *Z. Chem.* 9. 453—454. 1969.
- [68] KONONOWA, M. M.: Die Humusstoffe des Bodens. *VEB Verlag. D. Akad. Wiss. Berlin.* 1958.
- [69] KUMADA, K. & KAWAMURA, Y.: On the fractionation of humic acids by a fractional precipitation technique. *Soil Sci. Plant Nutr.* 14. 198—200. 1968.
- [70] KYUMA, K.: Fractionation of humic acids with alcohol in basic solution. *Soil Sci. Plant Nutr.* 10. 33—37. 1964.
- [71] LADD, J. N. & BRISBANE, P. G.: Release of amino acids from soil humic acid by proteolytic enzymes. *Austr. J. Soil Res.* 5. 161—71. 1967.
- [72] LADD, J. N. et al.: The susceptibility of nitrogenous components of humic acids to enzyme attack inhibition of pronase activity. *Trans. 9th Congr. Int. Soc. Soil Sci. Adelaide* 3. 319—327. 1968.
- [73] LADD, J. N. & BUTLER, J. H. A.: Inhibitory effect of soil humic compounds on the proteolytic enzyme pronase. *Austr. J. Soil Res.* 7. 241—251. 1969.
- [74] LADD, J. N. & BUTLER, J. H. A.: Inhibition and stimulation of proteolytic enzyme activities by soil humic acids. *Austr. J. Soil Res.* 7. 253—261. 1969.
- [75] LADD, J. N. & BUTLER, J. H.: The effect of inorganic cations on the inhibition and stimulation of protease activity by soil humic acids. *Soil Biol. Biochem.* 2. 33—40. 1970.
- [76] LAKATOS, B. et al.: Vizsgálatok a huminsavak farmakológiai célokra történő felhasználására I., II., III. CHINOLIN jelentés. *MTA-KKKI. Budapest.* 1970. 1971. 1972.
- [77] LAKATOS, B. et al.: Humuszanyagok fémionokkal alkotott komplex-rendszereinek vizsgálata és gyakorlati alkalmazása. VII. Komplexkémiái Kollokvium. *Sárospatak.* 1972.
- [78] LAKATOS, B. et al.: Physical and chemical properties of peat humic acids and their metal complexes. *Proc. 4th Intern. Peat Congr. Otaniemi. Finland.* 341—53. 1972.
- [79] LAKATOS, B. et al.: Humuszanyagok és ezek fémionokkal alkotott rendszereinek fizikai-kémiai vizsgálata. VI. Széknémiai Ankt. Ásványi humuszfordozók, humuszvegyületek kutatása és hasznosítása. 31—32. *Magyar. Kém. Egyesülete. Budapest.* 1972.
- [80] LAKOMIEC, I. & KOZAKIEWICZ, A.: Stability of fulvates and humates depending on medium reaction. (in Polish). *Roczn. Glebozn.* 21. 51—68. 1970.
- [81] LEMPITSKAYA V. K. & OSTROVSKAYA, L. K.: Use of iron and copper from humic acid and humates by plants. (in Russ.) *Fiziol. Biokhim. Osn. Pitan. Rast.* 106—114. 1967.
- [82] LEVASKEVICZ, G. A.: Vzáimodejstvije gumuszovűh sz gidrookiszmami zseleza i aljuminija. *Pocsvovedenie.* (4) 58—65. 1966.
- [83] LEVASKEVICZ, G. A.: Reakcii vzáimodejstvija gumuszovűh kizsot sz gidrookiszmami zseleza i aljuminija. In: *Himija, genezisz i kartografija pocsv.* 10—14. *Nauka. Moskva.* 1968.
- [84] LEVASKEVICZ, G. A.: Reaction of humic acid with ionic forms of iron and aluminium. (in Russ.) *Kora Vyvetrivanya* 249—59. (cf. C. A. 72. 57810y) 1968.
- [85] LEVASKEVICZ, G. A.: O vzáimodejstvii gumuszovűh kizsot pocsv sz polutonimi okiszmami. In: *Biogehimicseszkie processzi v podzolsztűh pocsv.* 212—229. *Nauka. Leningrad.* 1972.
- [86] LEVESŌUE, M. & SOHNITZER, M.: Effects of NaOH concentration on the extraction of organic matter and of major inorganic constituents from a soil. *Canad. J. Soil Sci.* 46. 7—12. 1966.
- [87] MÁDY, GY., MEISEL, J. & LAKATOS, B.: Huminsavak fémbekötései potenciáljának meghatározási lehetősége fémszelektív membránelektrodák segítségével. VI. Széknémiai Ankt. Ásványi humuszfordozók, humuszvegyületek kutatása és hasznosítása. 59—60. *Magyar. Kém. Egyesülete. Budapest.* 1972.



- [88] MÁDY, GY., MEISEL, J. & LAKATOS, B.: Fémion szelektív membrán-elektrodok alkalmazása huminsavak fémionokkal alkotott rendszereinek vizsgálatára. VII. Komplexkémiái Kollokvium. Sárospatak. 1972.
- [89] MALIWAL, G. L. & KHAGAROT, A. S.: Occurrence of amino acids and reducing sugars in acid hydrolysates of fulvic acids isolated from Rajasthan soils. *J. Indian Soc. Soil Sci.* **14**, 101-103. 1966.
- [90] MÁRKUS, J.: Huminsavas mikroelemplex adagolása. Kísérletek broiler csibékkel. VI. Szénkémi Ankét, Ásványi humuszfordozók, humuszvegyületek kutatása és hasznosítása. 321-328. Magyar Kém. Egyesülete. Budapest. 1972.
- [91] MARTIN, J. P. & HALDER, K.: Microbial activity in relation to soil humus formation. *Soil Sci.* **111**, 54-63. 1971.
- [92] MARTIN, A. E. & REEVE, R.: The extraction of organic matter from podzolic B horizons with organic reagents. *Chem. Ind.* 356. 1955.
- [93] MARTIN, A. E. & REEVE, R.: Chemical studies of podzolic illuvial horizons. III. Titration curves of organic matter suspensions. *J. Soil Sci.* **9**, 89-100. 1958.
- [94] MEISEL, J., MÁDY, GY. & LAKATOS, B.: Nagyítású huminsavak, hmatomelánsavak és fulvosavak előállítása valamint kationcserélő és redoxi kapacitásának meghatározása. VI. Szénkémi Ankét, 57-58. Ásványi humuszfordozók, humuszvegyületek kutatása és hasznosítása. 57-58. Magyar Kém. Egyesülete. Budapest. 1972.
- [95] MEISEL, J. et al.: Preparation and physicochemical properties of humic and fulvic acids as well as metal humates and fulvates. Studies about Humus. Intern. Symp. Humus et Planta V. Prague. 1971. 279-81.
- [96] MOSHCENKO, G. P. & ZABRAMNYI, D. T.: Humic acids of weathered lignite. (in Russ.) *Ugli Srednei Azii Puti Ikh. Ispol'z.* 61-83. (cf. C. A. **71**, 62886t) 1968.
- [97] MÜCKE, D. & KLÖCKING, R.: Verfahren zur Gewinnung wasserlöslicher Huminsäuren. *Germ. Patent.* 49324. 1966.
- [98] MÜCKE, D. & OBENAU, R.: Eine Methode zur Isolierung wasserlöslicher Huminsäuren. *Naturwiss.* **48**, 478. 1961.
- [99] NAKAJIMA, K. et al.: Humin-type fertilizer. *Japan 3770(058)* May 16, 1958; (cf. C. A. **53**, 5572a) 1958.
- [100] NEMEE, A. & VOPENKA, L.: The effect of anhydrous ammonia on humus substances and cations in soil. *Agrochimica.* **15**, 321-327. 1971.
- [101] NIKLEWSKY, B. & WOJCIECHOWSKY, J.: Über den Einfluss der wasserlöslichen Humusstoffe auf die Entwicklung einiger Kulturpflanzen. *Bodenkunde Pflernähr.* **4**, 294-327. 1937.
- [102] OBENAU, R. et al.: Zur Biochemie der Huminsäuren III. Die Bindung von Huminsäuren an Serumproteine in vitro (Papierelektrophoretische Untersuchungen). *Acta biol. med. german.* **15**, 9-13. 1965.
- [103] OBENAU, R. et al.: Zur Biochemie der Huminsäuren IV. Die Bindung von Huminsäuren an Serumproteine in vitro (ein- und zweidimensionale agarelektrophoretische Untersuchungen). *Acta biol. med. german.* **15**, 14-19. 1965.
- [104] OBENAU, R. & MÜCKE, R.: Zur Biochemie der Huminsäuren aus ihren Eisenchelatverbindungen. *Acta biol. med. german.* **10**, 233-238. 1963.
- [105] PEJVE, J. V.: Szoderzasnie dosztupnüh raszteniarni form mikro-elementov v pocsvali SSSR. *Izv. AN. Latv. SSSR.* 1958.
- [106] POSNER, A. M.: The humic acids extracted by various reagents from a soil. Part I. Yield, inorganic components and titration curves. *J. Soil Sci.* **17**, 65-78. 1966.
- [107] POSPISIL, F.: Humic acids, their properties and effect on phytate hydrolysis. *Trans. Intern. Symp. Humus et Planta V. Prague.* 343. 1971.
- [108] POTTENGER, F. M. JR.: The use of copper, cobalt, manganese and iodine in the treatment of undulant fever. *Trans. Am. Therap. Soc.* **48**, 130-40. 1947.
- [109] RASHID, M. A.: Role of humic acids of marine origin and their different molecular weight fractions in complexing di- and trivalent metals. *Soil Sci.* **111**, 298-306. 1971.
- [110] RASHID, M. A. & KING, L. H.: Molecular weight distribution measurements on humic and fulvic acid fractions from marine clays on the Scotian Shelf. *Geochim. Cosmochim. Acta* **33**, 147-151. 1969.
- [111] RAYMOND, R. A.: Humic acid fertilizers. *Fr. 1,439,036* (Cl. C. 05f, g) May 20. 1966. *Appl. Jan.* 15. 1965. (cf. C. A. **65**, 20792h) 1966.
- [112] ROCHUS, W.: Die Gewinnung der Fulvosäuren aus ihren verdünnten Lösungen. *Soil Biol.* (10) 26-27. (cf. C. A. **70**, 105454z) 1969.
- [113] ROCHUS, W.: Influence of different humic substances on growth and phosphate uptake by cereal plants. *Symp. Humus et Planta V. Prague.* 535-540. 1971.
- [114] SAJÓ, I.: Komplexometria. Műszaki Könyvkiadó. Budapest. 1973.
- [115] SAPEK, A.: Obtaining iron aluminium and copper compounds with humic substance from podzolic soils. *Roczn. Glebozn.* **21**, 113-122. 1970.
- [116] SAPEK, A.: Properties of nickel and cobalt compounds with humic substances from podzolic soil. *Roczn. Glebozn.* **21**, 429-441. 1970.
- [117] SAPEK, A.: The role of the humus substances in podzol soil development. (in Polish) *Stud. Soc. Sci. Torunensis.* **7**, 1-93. 1971.
- [118] SÁMSON, Z. et al.: Néhány láptalaj és azon termelt takarmány nyomtápelem vizsgálata. *Agrokémia és Talajtan.* **20**, 353-360. 1971.
- [119] SCHAFFER, F. & ULRICH, B.: *Lehrbuch der Agrilkulturchemie und Bodenkunde III. Teil. Humus und Humusdüngung.* Enke. Stuttgart. 1960.
- [120] SCHARPENSEL, H. W. & KRAUSSE, R.: Aminosäureuntersuchung an verschiedenen organischen Sedimenten, besonders Grau- und Braunhuminsäurefraktionen verschiedener Bodentypen (einschliesslich C<sup>14</sup>-markierten Huminsäuren). *Z. Pflernähr. Düng. Bodenk.* **96**, 11-34. 1962.
- [121] SCHNITZER, M., DESJARDINS, J. G.: Molecular equivalent weights of the organic matter of a podzol. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.* **26**, 362-365. 1962.
- [122] SCHNITZER, M. & KHAN, S. U.: Humic substances in the environment. *Dekker.* New York. 1972.
- [123] SCHNITZER, M. & SKINNER, S. I. M.: Organometallic interactions in soils: 3. Properties of iron and aluminium-organic matter complexes prepared in the laboratory and extracted from a soil. *Soil Sci.* **98**, 197-203. 1964.
- [124] SCHNITZER, M. & SKINNER, S. I. M.: Alkali versus acid extraction of soil organic matter. *Soil Sci.* **105**, 392-396. 1968.
- [125] SCHNITZER, M. & WRIGHT, J. R.: Extraction of organic matter from podzolic soils by means of dilute inorganic acids. *Canad. J. Soil Sci.* **37**, 89-95. 1957.
- [126] SCHNITZER, M., WRIGHT, J. R. & DESJARDIN, J. G.: A comparison of the effectiveness of various extractions for organic matter from two horizons of a podzol profile. *Canad. J. Soil Sci.* **38**, 49-53. 1958.
- [127] SEMENOV, A. D. & PASHANOVA, A. P.: Determination of microgram amounts of urea in natural waters. *Probl. Anal. Khim.* **1**, 233-7. (In Russ.) (cf. C. A. **74**, 130205j) 1970.
- [128] SHAPIRO, J.: Effect of yellow organic acids on iron and other metals in water. *J. Am. Water Work. Ass.* **56**, 1062-1069. 1964.
- [129] SHAPIRO, J.: Chemical and biological studies on the yellow organic acids of lake water. *Limnol. Oceanogr.* **2**, 161-167. 1967.
- [130] SHIBUYA, H.: Humic substances containing water soluble iron compounds. *Japan 7019,009* (Cl. 4 F2) 07 Jul. 1970. *Appl.* 24 Dec. 1966; (cf. C. A. **74**, 41486j) 1970.
- [131] SIMONART, P., BATISTIC, L. & MAYANDON, J.: Isolation of protein from humic acid extracted from soil. *Plant and Soil* **27**, 153-161. 1967.
- [132] SIPOS, S. et al.: Investigation of humic acids and metal humates with analytical ultracentrifuge.

- Proc. 4th Intern. Peat Congr. Otaniemi. Finland. 255—61. 1972.
- [133] SIPOSNÉ KEDVES, É. & SIPOS, S.: Néhány hazai barnaszén minta oxigén funkciós csoportjainak meghatározása. Szegei Tanárképző Főisk. Tud. Közl. 71—77. 1967.
- [134] SIPOSNÉ KEDVES, É. & SIPOS, S.: Barnaszének kémiai vizsgálata. Szegei Tanárképző Főisk. Tud. Közl. 137—146. 1968.
- [135] SMALIN, V. T. et al.: Transformation of humic substances of caustobio lithy by microorganism. (in Russ.) Mikrobiol. Zh. (Kiev) 33. (3) 280—4. 1971.
- [136] SMITH, R. C. & HOWARD, H. C.: Equivalent and molecular weights of humic acids from a bituminous coal. J. Amer. Chem. Soc. 57. 512—516. 1935.
- [137] SMOĐLAKA, M. & BOGDANOVIC, M.: Effect of humin fertilizers on the Valeriana officinalis. (in Croat) Arh. Farm. 15. 169—72. 1965.
- [138] SOGINOW, W.: Untersuchungen über die Humo-Proteinkomplexe. Trans. Int. Symp. Humus et Planta III. Prague, Brno. 135—141. 1961.
- [139] SOLINAS, V.: Interazioni fra acido humico e soli di sesquiossidi idrati. Studi Lassar. Sect. III. 205—214. 1968.
- [140] SZOLOMINSZKAJA, B. A. et al.: Vüdenie iz pocvy malozol'nüh preparatov guminovüh kiszlot i ful'vokiszlot. Izv. TSZHA (2) 175—178. 1969.
- [141] SOWDEN, F. I. & DEUEL, H.: Fractionation of fulvic acid from the B horizon of a podzol. Soil Sci. 91. 44—48. 1961.
- [142] STEELINEK, C.: What is Humic Acid? J. Chem. Educ. 40. 379—384. 1963.
- [143] SZALAY, S. et al.: Mikroelem hiányjelenségek az Énying környéki lápterületen. Agrokémia és Talajtan. 19. 1—12. 1970.
- [144] SZALAY, S. et al.: Összehasonlító vizsgálatok néhány magyarországi lápterület és ásványi talaj flórájának mikroelem tartalmáról. Agrokémia és Talajtan. 19. 13—26. 1970.
- [145] SZALAY, S. & SZILÁGYI, M.: Laboratory experiments on the retention of micronutrients by peat humic acids. Plant & Soil 29. 219—224. 1968.
- [146] SZYMANSKY, S.: Phosphate-humate compounds and phosphoric nutrition of plants. Trans. Intern. Symp. Humus et Planta III. Prague, Brno. 289—90. 1961.
- [147] TICHY, V. et al.: The influence of humus substance on the calorific value of the plant dry matter and on its production. Symp. Humus et Planta IV. 291—92. Prague. 1967.
- [148] TINSLEY, J. & SALAM, A.: Extraction of soil organic matter with aqueous solvents. Soils & Fert. 24. 81—84. 1961.
- [149] TOMIOKA, S.: Soil conditioning agent. Brit. 1 1,058,763 (Cl. C 07g) Feb. 15. 1967. Appl. July 19. 1963. (cf. C. A. 67. 2485a) 1967.
- [150] TÖLGYESI, GY.: Applicability of newest knowledge on the microelement content of plants in different fields of agricultural sciences. Acta Agron. Hung. 13. 287—301. 1965.
- [151] TÖLGYESI, GY.: A növények mikroelemtartalma és ennek mezőgazdasági vonatkozásai. Mezőgazd. Kiadó. Budapest. 1969.
- [152] URBÁNYI, L.: Vizsgálatok a takarmányhoz kevert vas- és rézszók biológiai hatásáról. Mezőgazd. Kut. 13. 157—167. 1940.
- [153] VINKLER, P. et al.: Infrared and EPR spectra of peats, peat humic acids and metal humates. Trans. Intern. Symp. Humus et Planta V. Prague. 301—4. 1971.
- [154] VISSER, S. A.: Physiological action of humic acids on living cells. Proc. 4th Intern. Peat Congress, Otaniemi. Finland. 1972.
- [155] VOISIN, A.: A talaj és a növényzet, az állat és az ember sorsa. Mezőgazd. Kiadó. Budapest. 1964.
- [156] WALLACE, A. & KHADR, A. H.: Some plants physiological effect of humic acids derived from leonardite. Curr. Top. Plant Nutr. 45—52. 1966.
- [157] WANSART, G.: Fertilizers containing nitrogen and calcium humate. Ger. 909.104. Apr. 12. 1954. (Cl. 16, 14); (cf. C. A. 52. 8437f) 1954.
- [158] WILDENHAIN, W.: Chemie der Fulvo- and Huminsäuren. Freiberg. Forschungsh. A 447. 1—73. 1969.
- [159] WILDENHAIN, W. & HENSCKE, G.: Organische Verbindungen aus Hochmoortorfextrakten. Z. Chem. 5 (12). 457—458. 1965.
- [160] WITTHAUER, J. & KLÖCKING, R.: Bindungsarten des Stickstoffs in Huminsäuren. Arch. Acker- u. Pflanzenbau u. Bodenkd. 15. 663—670. 1971.
- [161] WRIGHT, J. R., SCHNITZER, M. & LEVICK, R.: Some characteristics of the organic matter extracted by dilute acids from a podzolic B horizon. Canad. J. Soil Sci. 38. 14—22. 1958.
- [162] ZIECHMANN, W.: Über den System-Charakter von Huminstoffen. Trans. 8th Intern. Congr. Soil Science, Bucharest. 3. 193—200. 1964.
- [163] ZIECHMANN, W. & PRZEMETEK, E.: Untersuchungen über die physiologische Wirkung von synthetischen und natürlichen Huminstoffen auf das Wurzelwachstum und auf die Phosphataseaktivität im Wurzelmeristem. Scheffer-Festschr. 143—165. 1964.
- [164] YOTSUYANAGI, T. et al.: Mechanism of coagulation of water by metal ion coagulants II. Effect of partially neutralized aluminium salts on the coagulation of humic acid in water. Kogyo Kagaku Zasshi 72(8). 1932—3. 1969. (cf. C. A. 72. 57819g) 1969.
- [165] YUAN, T. L.: Comparison of reagents for soil organic matter extraction and effect of pH on subsequent separation of humic and fulvic acids. Soil Sci. 98. 133—141. 1964.
- [166] YUKHAIN, A. A. & ORLOV, D. S.: Fractionation of the fulvic acid on coal. (in Russ.) Biol. Nauki. 15(5). 138—141. 1971.

LAKATOS BÉLA, MEISEL TIBORNÉ  
és MÁDY GYÖRGY

Érkezett: 1974. január 10.