

Natív huminsav-agyagásvány komplexek kinyerése talajból kémiai extrakciós módszerrel

BUZÁS ISTVÁN¹, MEISEL TIBORNÉ², MÁDY GYÖRGY², SÁNDOR ZOLTÁN² és
LAKATOS BÉLA²

¹MTA Talajtani és Agrokémiai Kutató Intézete, és

²MTA Központi Kémiai Kutató Intézete, Budapest

A termőtalajok organominerális komplexei fontos szerepet töltenek be a talaj termékenységének, a talaj szerkezetének, a növényi tápanyagok szolgáltatásának alakításában. Az ilyen vegyületek vizsgálatát nagyon megnehezíti, hogy talajból való kinyerésük során irreverzibilisen degradálódnak, így tisztán nem lehetett őket előállítani.

A talajban lévő szerves anyagok elsődlegesen élő és holt szerves anyagok csoportjára oszthatók. A holt szerves anyagok a következő csoportokba sorolhatók:

- új képződmények /a talajban lévő mikrobák primer és szekunder anyagcsere-termékei/,
- nem humuszanyagok /fehérjék, szénhidrátok, viaszok, stb./,
- humuszanyagok /a talaj makro- és mikroszerkezeteinek, növényi maradványainak a talajra jellemző, aránylag stabil bomlástermékei/.

A talajok szerves vegyületeinek vizsgálatával már BERZELIUS is foglalkozott. A kutatást megnehezíti, hogy a talaj szerves anyaga igen heterogén. Még egy viszonylag egységes, szűk humuszfrakción belül is kicsi valószínűsége van annak, hogy két molekula azonos legyen.

A humuszanyagok elkülönítésére széles körben alkalmazzák a TJURIN /1937/ által kidolgozott, extrakción és frakcionált lecsapáson alapuló módszert. Ez az eljárás rendkívül idő- és munkaigényes /18-28 órás extrakció, ismételt lecsapás és szűrés/, a kinyerés nem kvantitatív és a humuszanyagok nagymértékű irreverzibilis degradációt szenvednek.

A humuszanyagok kinyerésére, vizsgálatára számos kíméletesebb extrakciós módszer is ismeretes az irodalomból /MARTIN és REEVE, 1955; SCHNITZER és WRIGHT, 1957; EVANS, 1959; HARGITAI, 1961; SCHNITZER és SKINNER, 1968; KHAN, 1971; LAKATOS et al., 1974; MÁDY et al., 1984, 1987/. A használt klasszikus /nátrium-hidroxid, kálium-hidroxid és ammonium-hidroxid/, illetve speciális feltárószerek /acetyl-bromid, primér, szekundér és terciér szerves aminok/ azonban vagy irreverzibilis degradációt okoznak a feltárás során, vagy nem vezetnek kvantitatív feltáráshoz.

Olyan eljárást dolgoztunk ki, amellyel a huminsavak a talajban előforduló "natív" állapotukban, azaz többértékű kationokkal lekött, illetve agyagásványokkal képzett organominerális komplexumok formájában különíthetők el. Így lehetőség nyílik arra, hogy a natív huminsav-agyagásvány organominerális komplexumok szerkezetét vizsgáljuk /LAKATOS et al., 1985/.

Vizsgálati anyag és módszer

Az általunk kidolgozott eljárással kapható eredményeket két talajfélésegnél és egy tőzegnél mutatjuk be.

- a. minta: hosszúháti réti talaj. $\text{pH}/\text{H}_2\text{O}/ = 5,2-5,4$. Ősszes szervesanyag-tartalma 3,0-3,4 % között változik, az agyagtartalma 44,5 %.
- b. minta: nagyhőrcsöki mészlepedékes csernozjom. $\text{pH}/\text{H}_2\text{O}/ = 7,9-8,0$. Szervesanyag-tartalma 3,0-3,1 %, agyagtartalma 23,1 %.
- c. minta: Keszthely környéki /usztatómajori/ síkláptőzeg. Mésziszapot és mészvázakat tartalmaz. $\text{pH}/\text{H}_2\text{O}/ = 7,8$. Széntartalma 18-39 %, az ebből számított szervesanyag-tartalom 30-70 %. Hamutartalma 28-43 %.

Kísérleteink során a feltáráshoz kerülő talajmintákat, illetve tőzeget 1:1 térfogatarányú metanol-dioxán eleggyel extraháltuk és szárítószekrényben 105 °C-on súlyállandóságig szárítottuk /16 óra/. Ezután a mészbevonatok, valamint egyes ásványi szennyezések miatt a száraz mintákhoz tízszeres súlyú 0,1 mólos vizes sósavoldatot öntöttünk. A szuszpenziót 24 órán át szobahőmérsékleten tartottuk, közben időnként rázogattuk. A szuszpenzió pH-ja kezdetben 1,0 volt, amely állás közben emelkedett. Az első, második, ötödik és nyolcadik óra eltelte után a kémhatást ellenőriztük és a szuszpenziót sósavoldattal pH=1-re savanyítottuk vissza. 8 óra eltelte után a kémhatás már nem változott. A szilárd anyagot centrifugálással különítettük el és háromszor mostuk 50 cm³ desztillált vízzel.

Az így kapott mintákhoz /kb. 10 g/ feltárószerként 0,1 mólos tetra-metil-ammonium-hidroxid /TMAH/-oldatot adtunk olyan mennyiségben, hogy a minta minden grammjára 100 cm³ jusson. A szuszpenziót időnkénti rázogatózás közben hét napig szobahőmérsékleten tartottuk. Ezután a felülúszót centrifugálással elválasztottuk a feltáratlan szilárd maradéktól, majd tömény sósavat adtunk hozzá. Egy éjszakai állás után a jól kiülepedett huminsav-frakciót centrifugálással különítettük el a fulvosavakat tartalmazó savas felülúszótól.

A felülúszót 60 x 2 cm Amberlit-XAD8 gyantaoszlopon engedték át 360 cm³/óra sebességgel és a gyantaoszlopot 9:1 térfogatarányú aceton/0,1 mólos sósavoldat elegyével eluáltuk. Az eluátumot vákuumban bepárooltuk és a nedves fulvosavakat exikkátorban foszforpentoxid fölött szárítottuk, majd lemértük és analizáltuk.

A huminsavfrakciót háromszor 200 cm³ 0,1 mólos sósavoldattal mostuk és további tisztítás céljából vizes TMAH-oldatban oldottuk, míg az oldat pH-ja 7-8 közötti értéket nem adott. Egy éjszakai állás után az elegyet centrifugáltuk és a felülúszót tömény sósavval pH = 1-re savanyítottuk.

A kapott szuszpenziót egy éjszakán át ülepítettük, majd centrifugáltuk és 0,1 mólos sósavoldattal mostuk. A huminsavakat ezután liofilizáltuk, szárítottuk és mértük.

Összehasonlítás céljából a huminsavak feltárását 0,1 mólos nátrium-hidroxiddal is elvégeztük.

Az infravörös spektrumokat Nicolet 7199 FT-IR abszorpciós spektrométerrel vettük fel, 4 cm⁻¹-es felbontásnál. A huminsavmintákból 0,5 mg-ot mérünk be és 250 mg KBr-dal pasztilláztuk.

Vizsgálati eredmények

A fulvosavak elemi analizisének eredményeit az 1. táblázat tartalmazza.

A 0,1 mólos TMAH-dal és a 0,1 mólos NaOH-val feltárt organominerális komplexek, ill. huminsavak kémiai összetételét és a talaj széntartalmára számított huminsav kitermelés értékét a 2. táblázat segítségével hasonlíthatjuk össze.

A TMAH-os feltárással kapott huminsav-frakció átlagos molekulatömegét gél-kromatográfiás módszerrel meghatároztuk. Az átlagos molekulatömeg az a. és b. mintánál 7,300; a c. mintánál 9,000 kD volt.

1. táblázat
A fulvósavak elemi összetétele

/1/ A minta jele	%			/2/ Hamu
	C	H	N	
a.	38,36	5,96	1,01	31,2
b.	36,85	5,76	1,05	32,9
c.	59,51	6,07	1,85	-

2. táblázat
A 0,1 mólos TMAH-dal és a 0,1 mólos NaOH-dal kinyert huminsavak elemi összetétele és a talaj széntartalmára számított huminsav kitermelés értéke

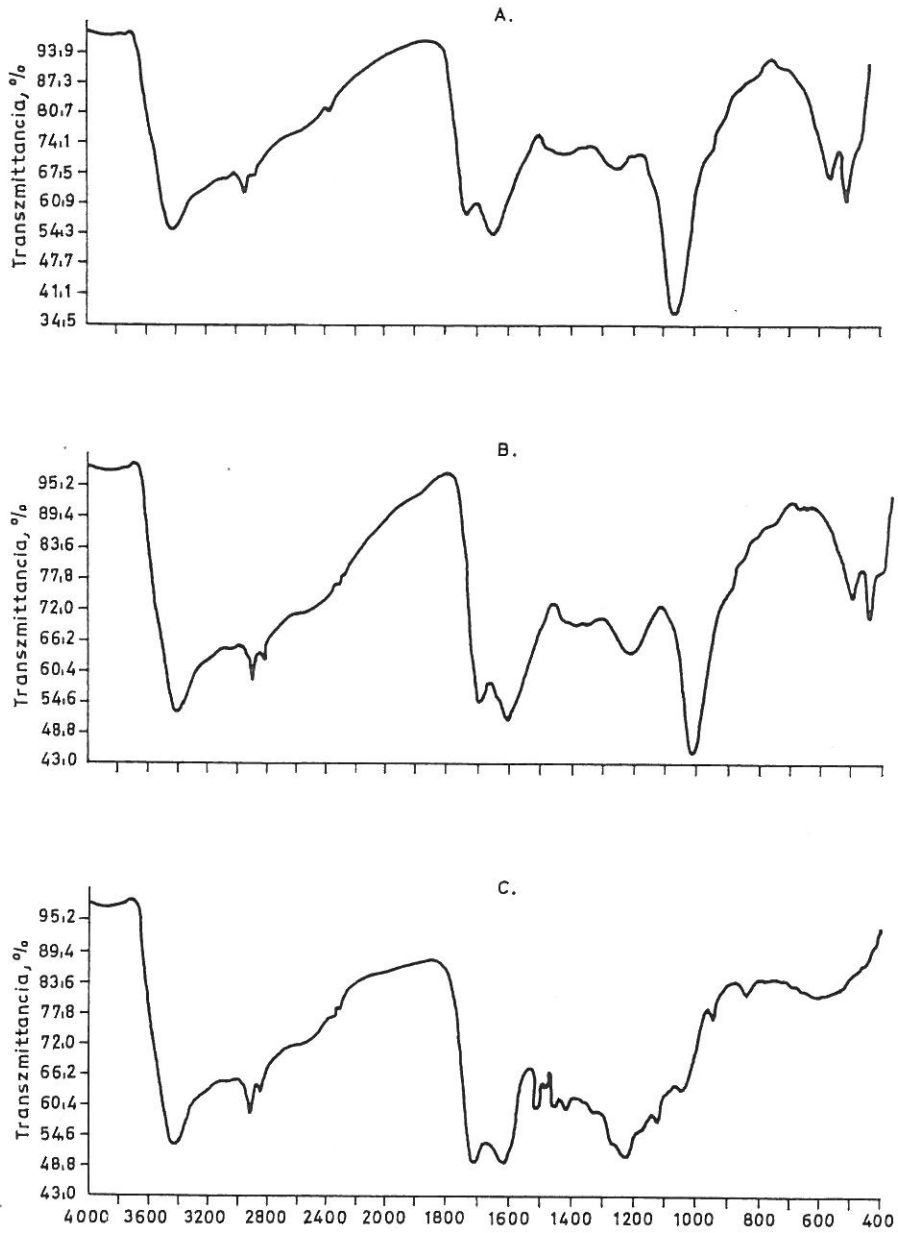
/1/ A minta jele	/2/ A feltárás módja	%				/3/ Hamu	/4/ Huminsav kitermelés
		C	H	N	OCH ₃		
a.	TMAH	19,60	2,80	2,91	0,85	56,80	6,5
	NaOH	18,10	2,61	1,62	0,51	57,94	5,4
b.	TMAH	18,71	2,80	1,91	0,52	55,51	5,5
	NaOH	18,42	2,22	1,91	0,61	54,49	4,5
c.	TMAH	55,51	5,61	2,41	4,71	0,84	16,0
	NaOH	54,62	4,62	2,22	4,10	1,37	14,8

3. táblázat
A TMAH-os eljárással kapott huminsav-frakció elemi összetétele, valamint a tisztítás előtti huminsav széntartalmára számított kitermelés értéke a huminsavfrakció tisztítása után

/1/ A minta jele	%			/2/ Hamu	/3/ Huminsav kitermelés
	C	H	N		
a.	41,62	3,46	3,06	17,81	21,71
b.	37,52	3,70	3,31	20,14	21,52
c.	56,01	4,01	2,21	0,34	92,00

A magas hamutartalom /2. táblázat/, valamint a viszonylag magas átlag molekulatömeg-értékek összhangban vannak korábbi tapasztalatainkkal /SIPOS et al. 1974/ és arra utalnak, hogy az agyagásványokkal képzett organominerális huminsav komplexek még jelentős mértékben tartalmaznak idegen anyagokat. Ezért további tisztításnak vetettük alá.

E célból a huminsav-frakció 1-1 g-jához keverés közben 40 cm³ 30 %-os vizes karbamidoldatot adtunk, majd az oldat pH-ját TMAH-dal 7-8 közötti ér-



1. ábra

Az a. mintából /A/, b. mintából /B/ és c. mintából /C/ TMAH-os extrakcióval nyert és tisztított huminsav-frakció infravörös spektruma. Vízszintes tengely: Hullámszám, cm^{-1}

4. táblázat
A TMAH-os extrakcióval nyert és tisztított huminsavminták
infravörös spektrumának adatai

/2/		/3/		/4/		/5/ Rezgésmód sávtípus
Az IR-sávok helye /cm ⁻¹ / és intenzitása /T %/						
cm ⁻¹	a. minta T %	cm ⁻¹	b. minta T %	cm ⁻¹	c. minta T %	
3421,7	(55,7)	3424,7	(47,2)	3424,9	(38,2)	ν(H..O-H)
3072,4	(68,7)	3072,1	(60,0)	3066,0	(59,0)	ν(C _{ar} -H)
3007,4	(70,2)	3004,7	(60,9)	3006,2	(62,3)	
2959,0	(65,9)	2959,0	(62,4)	2959,0	(58,2)	ν(CH ₃) és (CH ₂)
2923,4	(66,3)	2924,2	(55,3)	2924,7	(62,5)	
2854,0	(70,0)	2853,9	(59,1)	2852,9	(62,5)	
1718,6	(58,8)	1718,4	(50,7)	1718,4	(48,8)	ν(C=O)
1626,6	(53,8)	1623,8	(47,2)	1618,8	(46,9)	ν(C=O)
~1508,0	(71,6)	~1516	(63,3)	1512,5	(61,1)	ν(C...C) _{ar}
~1458,0	(70,7)	~1466	(64,0)	1487,4	(65,3)	δ _{as} (CH ₃) β _{as} (CH ₂)
		~1444	(62,6)	1454,3	(61,7)	
1417,9	(69,3)	1415,8	(62,0)	1421,3	(61,1)	ν(C...C) _{ar} +β(C _{ar} -H)
1388,6	(69,0)	1392,7	(61,9)	1389,8	(63,6)	δ _S (CH ₃); β _S (CH ₂)
1378,0	(68,9)	1377,7	(64,9)	~1378,0	(62,8)	
1368,0	(69,2)	1368,0	(62,06)	~1368,0	(62,4)	
				~1356,0	(62,0)	
1335,4	(69,9)	1334,8	(64,2)	1327,9	(60,0)	ν(C·C) és
~1260	(65,7)	--		1262	(52,6)	
1224,3	(64,3)	1231,7	(55,5)	1221,6	(49,9)	γ(CO)
1163,4	(66,2)	--		1173,2	(56,0)	β(=CH)
1152,6	(66,2)	~1125	(61,0)	1126,2	(57,5)	β(=CH)+γ(CO)
~1090	(55,3)	~1090	(57,8)	~1090	(64,8)	γ(CO) ν(SiO) β(COC)
1031,5	(33,3)	1028,9	(38,0)	1036,2	(64,5)	ν(C=O) és β(=CH) + γ(CO)
~ 914	(63,9)	~ 914	(62)	948,9	(79,8)	
~ 872	(69,2)	~ 872	(66,4)	--		
846	(73,3)	831,3	(69,4)	835,1	(84,7)	γ(C _{ar} -H)
797,3	(75,1)	797,8	(79,3)	--		
770,8	(75,5)	768,8	(70,2)	768,2	(87,5)	
665,9	(74,8)	665,8	(70,6)			
521,7	(53,4)	521,1	(55,8)	593,7	(80,8)	γ(O-H)

tékre állítottuk, hogy a huminsavak oldatba menjenek. Az elegyet egy éjszakan keresztül állni hagytuk. Az oldhatatlan anyagból Janetzky K 70 típusú centrifugán 15000 g gyorsulással végzett centrifugálással elválasztottuk, majd az oldatból tömény sósavval lecsaptuk a huminsav komplexeket. A csapadékot mostuk, liofilizáltuk és végül P_2O_5 felett exikkátorban súlyállandóságig szárítottuk. A tisztított organominerális komplexek elemi analízisének adatait a 3. táblázat tartalmazza.

Az így kapott tisztított huminsavak már alkalmasak infravörös spektroszkópiai vizsgálatokra. A minták infravörös spektrumát az 1. /A, B, C/ ábrán láthatjuk.

Vizsgálati eredmények, következtetések

A 2. és a 3. táblázat adatait összehasonlítva megállapítható, hogy a TMAH-os eljárással aránylag kis hamutartalmú, nagy széntartalmú huminsavfrakciót lehet nyerni. Az 1. /A, B, C/ ábrán látható infravörös spektrumokat kiértékelve /4. táblázat/ megállapítható, hogy a TMAH-dal a leírt módon extrahált huminsav-frakció natív huminsav-agyagásvány komplexeket tartalmaz. Az erre utaló fontosabb infravörös sávok a következők. A $\nu(H...O-H)$ asszociált, hidrogén-hidban kötött OH vegyértékrezgés. A $\nu(C-H)$ aromás C-H, míg a $\nu(CH_3)$ és $\nu(CH_2)$ a metil- és metiléncsoportok antiszimmetrikus és szimmetrikus C-H vegyértékrezgései. Az első $\nu(C=O)$ telített karbonsav dimér, nem konjugált β -ketonok, észterek, a második, amely főleg antiszimmetrikus C=O vegyértékrezgés, fém-karboxilát csoport és konjugált telítetlen ketonok jelenlétére utal. A $\nu(C...C)_{ar}$ aromás vázrezgés, a $\delta_{as}(CH_3)$ és $\beta_{as}(CH_2)$ sáv antiszimmetrikus C-H deformáció, $-OCH_3$ csoportokat jelez. A $\beta(=CH) + \gamma(CO)$ terciér alkoholos, a $\gamma(CO)$, $\beta(COC)$ sáv szekunder alkoholos csoportot és alifás éterkötést mutat. A kb. 1030 cm^{-1} -nél található intenzív sáv elsősorban az organominerális komplexek $\nu(Si-O)$ kötésének rezgése.

Ezeket a megállapításainkat korábbi vizsgálataink /LAKATOS et al., 1974; VINKLER et al., 1975/ is alátámasztják.

Összefoglalás

Talajok, tőzegek és egyéb humusztartalmú anyagok fulvo- és huminsavainak nem degradatív, közel kvantitatív feltárására, szobahőfokon 0,1 mólis tetra-metil-ammonium-hidroxid /TMAH/ vizes oldatát alkalmaztuk. A TMAH-dal végzett feltárás révén nem degradált állapotban nagy határfokkal lehet a humuszanyagokat kinyerni. A tetra-metil-ammonium-hidroxid az ammóniumhidroxiddal, továbbá a primér, szekundér és terciér alkil-aminokkal szemben a feltárás során nem degradálja és kémiaailag sem módosítja a humuszanyagokat.

A fulvosavakat Amberlit-XAD8 gyantával kötöttük meg. A huminsavfrakciót vizes TMAH-dal újra oldva majd sósavval ismét lecsapva tovább tisztítottuk. A huminsavak átlagos molekulatömegét gél-kromatográfiás, szerkezetét infravörös abszorpciós spektroszkópiás módszerrel vizsgáltuk.

Az általunk javasolt eljárással a huminsavak "natív" állapotban, részben organominerális komplexumok formájában nyerhetők ki. A kéméletes eljárás, melynek humuszanyagaihoz agyagásvány részek és szeszkvioxidok is kapcsolódnak lehetővé teszi, hogy infravörös spektrometria számára megfelelő tisztaságban legyenek kinyerhetők az anyagok. A jellemző infravörös adszorpciós sávok elemzésével képet alkothatunk a talaj szerkezetének kialakításában nagy szerepet játszó organominerális komplexek kémiai szerkezetéről, kötésviszonyairól.

Irodalom

- EVANS, L.T., 1959. The use of chelating reagents and alkaline solutions in soil organic matter extraction. *J. Soil Sci.* 10. 110-118.
- HARGITAI L., 1961. Humuszanyagok optikai tulajdonságai és nitrogéntartalmuk közötti összefüggés. *Keszthelyi Mezőgazd. Akad. Kiadványai.* 5. 1-20.
- KHAN, S.U., 1971. Distribution and characteristics of organic matter extracted from black solonchic and black chernozemic soils of Alberta: humic acid fraction. *Soil Sci.* 112. 401-409.
- LAKATOS B. et al., 1974. Biopolimer-fém komplex rendszerek I. Kísérletek nagy tisztaságú tőzeg humuszanyagok és fémkomplexeik előállítására. *Agrokémia és Talajtan.* 23. 505-522.
- LAKATOS B. et al., 1985. Eljárás a talaj humuszanyagainak kvantitatív feltárására és a feltárt anyag komponenseinek elkülönítésére. 194409. számú találmányi bejelentés.
- MÁDY GY. et al., 1984. Berendezés szuszpenziók, különösen a termőtalajok szervesanyag- és kolloid tartalmának meghatározására. 195338. számú találmányi bejelentés.
- MÁDY GY. et al., 1987. Készülék szerves trágyák, tőzegek és talajok könnyen mobilizálható huminanyag-tartalmának rutinszerű meghatározására. 197632 számú találmányi bejelentés.
- MARTIN, A.E. and REEVE, R., 1955. The extraction of organic matter from podzolic B horizons with organic reagents. *Chem. Ind.* 356.
- SCHNITZER, M. and SKINNER, S.I.M., 1968. Alkali versus acid extraction of soil organic matter. *Soil Sci.* 105. 392-396.
- SCHNITZER, M. and WRIGHT, J.R., 1957. Extraction of organic matter from podzolic soils by means of dilute inorganic acids. *Canad. J. Soil Sci.* 37. 89-95.
- SIPOS S. et al., 1974. Biopolimer-fém komplex rendszerek II. Humuszanyagok és fémekkel alkotott rendszereik fizikai tulajdonságai. *Agrokémia és Talajtan.* 23. 313-334.
- TJURIN, I.V., 1937. The organic substances of soils. Leningrad-Moscow.
- VINKLER P., LAKATOS B. és MEISEL T.-NÉ, 1975. Biopolimer-fém komplex rendszerek III. Humuszanyagok és fémkomplexeik infravörös abszorpciós spektroszkópiai vizsgálata. *Agrokémia és Talajtan.* 24. 121-139.

Érkezett: 1988. október 24.

Extracting Native Clay-Humus Complexes From Soil by
Chemical Extraction

I. BUZÁS¹, J. MEISEL², GY. MÁDY², Z. SÁNDOR² and B. LAKATOS²

¹Research Institute for Soil Science and Agricultural Chemistry of the Hungarian Academy of Sciences, and ²Central Research Institute for Chemistry of the Hungarian Academy of Sciences, Budapest

Summary

We used a 0.1 mole aqueous solution of tetramethyl-ammonium hydroxide /TMAH/ at room temperature for the extraction of fulvic acid and humic acid - clay mineral complexes from different soils and peats. By applying TMAH for the extraction we could obtain the humic substances in a non-degradative, native form and in a nearly quantitative amount. In contrast with ammonium hydroxide and the primary, secondary and tertiary alkylamines, TMAH neither degrades nor even modifies the humic substances chemically.

The fulvic acids were bound to an Amberlite XAD-8 resin. The humic substances were resolved with aqueous TMAH solution and reprecipitated with hydrochloric acid, finally resolved with aqueous urea and TMAH solution and reprecipitated for further purification. The average molecular mass of humic substance was examined by gel-chromatography and the structure of humic acid - clay mineral complexes by IR absorption spectroscopy. From Table 1 it can be seen that the humic substances obtained by 0.1 mole TMAH extraction have lower ash content and higher carbon and nitrogen content than the samples which were extracted with 0.1 mole sodium hydroxide. The relatively high ash content and the molecular mass in Table 3 refer to the presence of different contaminations. The analytical data of the purified humic substances can be seen in Table 4. These purified humic acid - clay mineral complexes are already suitable for recording IR absorption spectra for structure determination /Fig. 1/. The assignment of characteristic IR absorption frequencies of samples can be found in Fig. 1.

By this extraction method the humic acids can be obtained in their native form, i.e. in organominerals, in such a pure state that it becomes possible to examine the structure of these complexes by IR absorption spectroscopy. Studying the IR absorption spectra we can obtain a picture about the structure, i.e. bindings of the organomineral clay complexes to humic substances with metal ions which plays a very important role in the formation of soil structure.

Table 1. Ultimate analysis data of fulvic acids. /1/ Sign of sample. /2/ Ash.

Table 2. Ultimate analysis data and the yield of clay-humus complexes extracted with 0.1 mole TMAH and NaOH solution. /1/ Sign of sample. /2/ Digestive agent. /3/ Ash. /4/ Yield of clay-humus complex.

Table 3. Ultimate analysis data and yield of purified clay-humus complexes extracted with TMAH. /1/ Sign of sample. /2/ Ash. /3/ Yield of clay-humus extract.

Table 4. Characteristic IR absorption frequencies of purified clay-humus complex samples extracted with TMAH. /1/ Band maxima /cm⁻¹/ and intensity /T%/. /2/ Sample a. /3/ Sample b. /4/ Sample c. /5/ Assignment.

Fig. 1. IR absorption spectra of purified clay-humus complex. A. Sample a. B. Sample b. C. Sample c.