

STRUKTURA SUBSTANCJI HUMUSOWYCH
W ŚWIETLE SPEKTROMETRII MAGNETYCZNEGO REZONANSU JĄDROWEGO

Jerzy Pacha
Katedra Mikrobiologii UŚl, Katowice

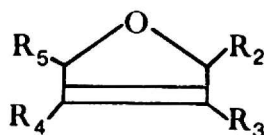
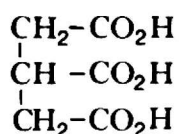
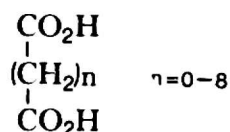
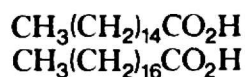
Kwasy humusowe i fulwowe są głównymi składnikami materii organicznej gleby i stanowią 70-80% tej frakcji [24]. Ze względu na wysoką reaktywność i właściwości sorpcyjne substancje te są odpowiedzialne w głównej mierze, obok minerałów ilastych, za utrzymywanie homeostazy gleby [4]. Związki te biorą udział w całym szeregu reakcji przebiegających w glebie. Oddziałują one nie tylko z metalami, ich tlenkami i wodorotlenkami, minerałami ilastymi, lecz także ze związkami organicznymi, takimi jak alkany, kwasy tłuszczowe, węglowodany, peptydy, białka, pestycydy czy herbicydy. Dzięki wiązaniu metali ciężkich przez humus ich toksyczność jest obniżona, natomiast wzajemne oddziaływanie humusu ze związkami organicznymi powoduje, że stają się one bardziej odporne na rozkład przez enzymy glebowe [25].

Substancje humusowe są wynikiem biotycznego i abiotycznego rozkładu reszt pochodzenia roślinnego i zwierzęcego oraz syntezy prowadzonej de novo przez mikroorganizmy glebowe [9]. Mimo tak wielkiego znaczenia substancji humusowych dla wielu procesów przebiegających w glebie niewiele jednak wiemy o ich budowie chemicznej i strukturze. Bardzo trudno jest bowiem oddzielić związki humusowe sensu stricto od resztek roślinnych i zwierzęcych częściowo zhumifikowanych, a gleba jest poza tym środowiskiem otwartym, podatnym na wpływy klimatyczne, chemiczne i biologiczne i dlatego żaden model czysto statyczny nie może oddać struktury humusu [15].

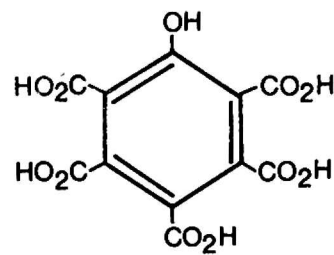
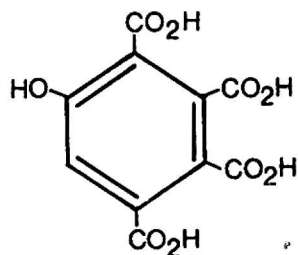
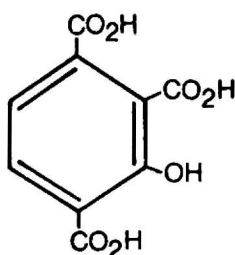
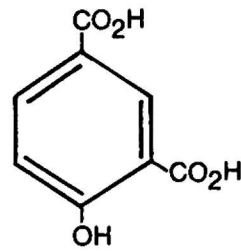
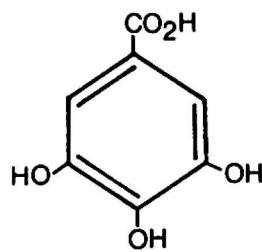
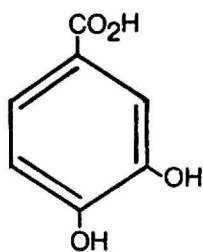
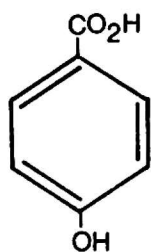
W badaniach struktury substancji humusowych stosowane są metody chemiczne i fizyczne. Cząsteczka humusu jest zbyt duża do przeprowadzenia bezpośredniej analizy chemicznej, dlatego też najpierw poddaje się ją procesowi degradacji, najczęściej utlenianiu za pomocą nadmanganianu potasu w środowisku zasadowym, kwasu nadoctowego w środowisku kwaśnym lub tlenku miedzi w środowisku zasadowym w temperaturze 170°C, hydrolizie zasadowej w temperaturze 170°C, rozkładowi hydrotermicznemu w temperaturze 170°C, czy też działaniu ultradźwięków. Produkty degradacji ekstrahuje się rozpuszczalnikami organicznymi a następnie identyfikuje poprzez ich widma masowe i widma podczerwieni oraz przy użyciu chromatografii gazowej. Degradacja za pomocą różnych metod prowadzi do powstawania mniej więcej tych samych produktów, zawierających te same składniki zasadnicze a ewentualne różnice między frakcjami humusu wynikają, jak się wydaje, mniej z ich składu chemicznego, a więcej z rodzaju wiązań, dzięki którym z podjednostek tworzone są większe jednostki strukturalne związków humusowych [15].

Produktami degradacji chemicznej substancji humusowych są:

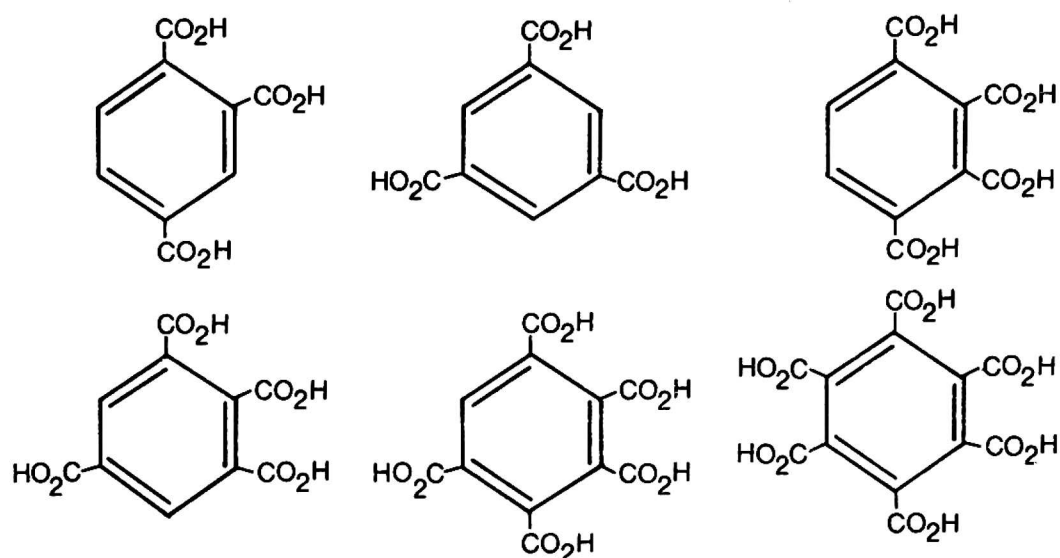
1/ kwasy alifatyczne, przede wszystkim dwu- i trójkarboksylowe,



2/ kwasy fenolowe, głównie zawierające 1-3 grupy OH oraz 1-5 grup CO₂H,

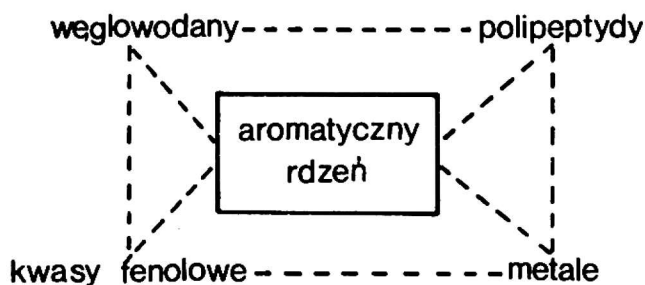


3/ kwasy benzenokarboksylowe, zwłaszcza trój-, cztero-, pięcio- i sześciokarboksylowe,



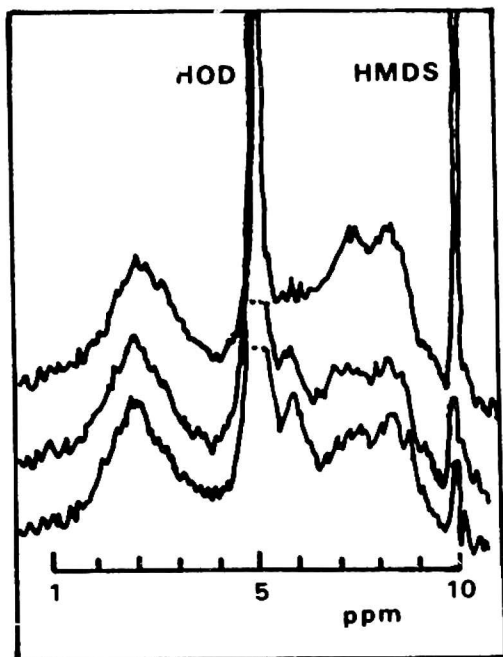
4/ wolne alkany, kwasy tłuszczowe i ftalany dwualkilowe.

Relacje między zidentyfikowanymi produktami degradacji chemicznej substancji humusowych a ich strukturą są jednak trudne do uchwycenia, gdyż podczas degradacji część cząsteczki humusu może ulegać destrukcji lub zmianom chemicznym, dlatego też relacje strukturalne między poszczególnymi grupami produktów degradacji, zwłaszcza zaś między częścią alifatyczną a aromatyczną pozostają wciąż przedmiotem dyskusji [22]. Część badaczy przypuszcza [5, 30], że substancje humusowe zbudowane są z aromatycznego rdzenia z doczepionymi do niego kwasami fenolowymi, węglowodanami, polipeptydami i metalami. Anderson i współpracownicy uważają, że związki humusowe strukturalnie przypominają raczej kwas polimaleinowy [1, 35].

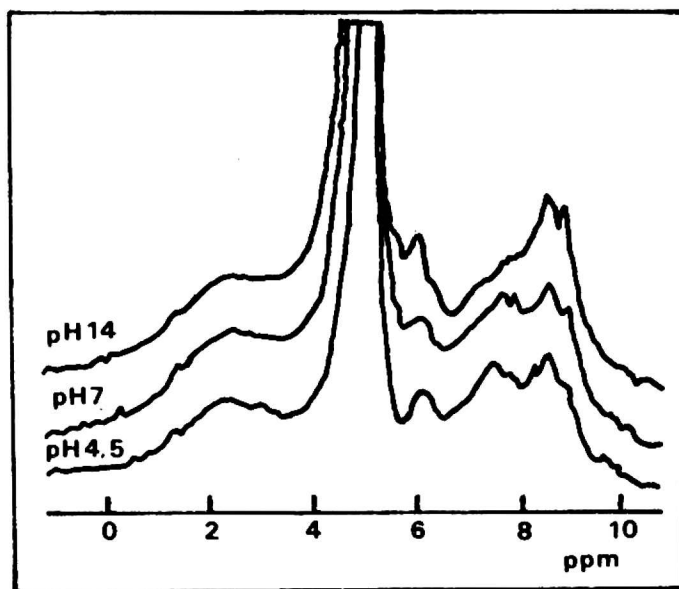


Rys. 1. Struktura kwasu humusowego - Cheshire i współpr. [5]

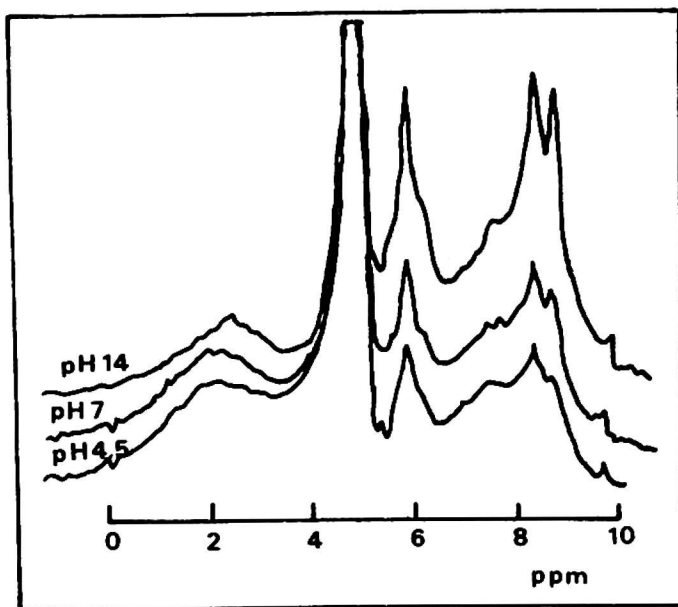
Najlepszą spośród fizycznych, niedestrukcyjnych metod badania struktury związków chemicznych, w tym substancji humusowych jest, obok empirycznej spektroskopii w podczerwieni, NMR - spektrometria magnetycznego rezonansu jądrowego [7, 17]. Badania substan-



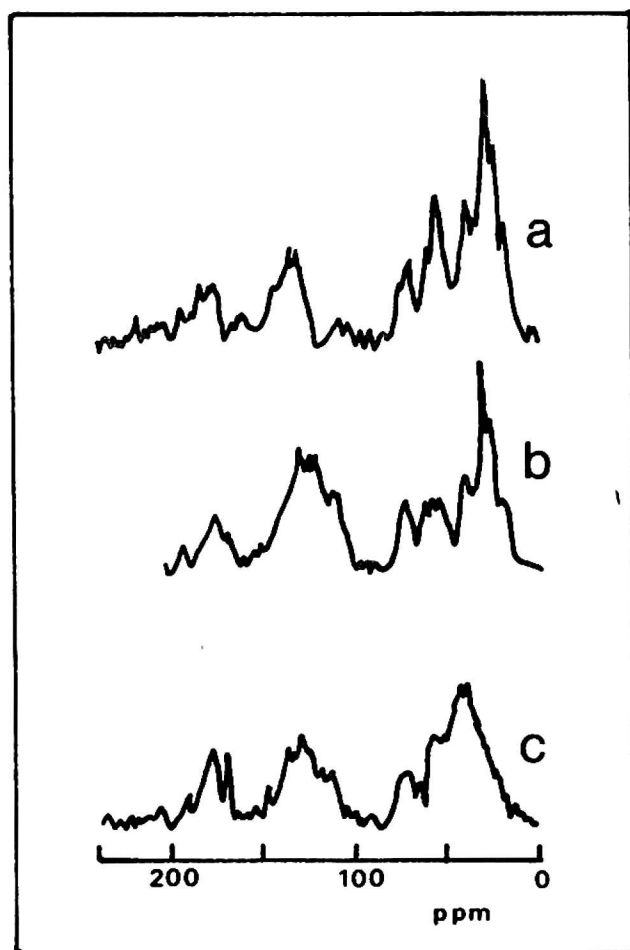
Rys. 2. Widma ^1H kwasów humusowych - Luedemann i współpr. [12]



Rys. 3. Widma ^1H kwasów humusowych z warstwy B - Lentz i współpr. [11]



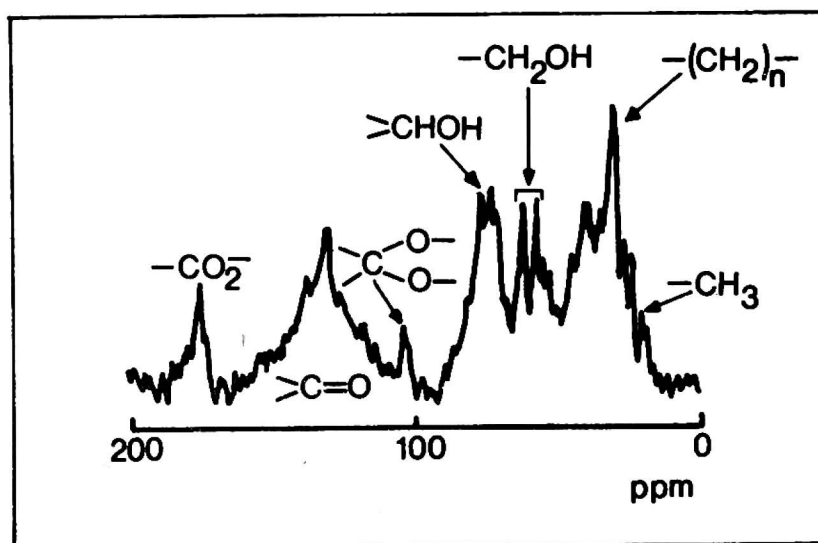
Rys. 4. Widma ^1H kwasów humusowych z warstwy A - Lentz i współpr. [11]



Rys. 5. Widma ^{13}C kwasów humusowych /a, b/ i kwasu fulwowego /c/ - Gonzalez Vila i współpr. [6]

cji humusowych z użyciem NMR nastroczały początkowo trudności ze względu na niską czułość tej metody oraz nierozpuszczalność lub słabą rozpuszczalność humusu w większości niewodnych rozpuszczalników stosowanych w tej technice i dlatego też uzyskiwane początkowo widma nie dostarczały wartościowych informacji o strukturze związków humusowych. Technikę tę zastosowali po raz pierwszy do badania humusu Barton i Schnitzer [3], którzy wykonali widma protonowe metylowanych kwasów fulwowych oraz otrzymanych z nich frakcji. W badanych preparatach wykryto 4 rodzaje protonów, tj. z OCH_3 metylowanych grup OH , CO_2H oraz grup polimetylenowych i metylowych na końcach łańcuchów metylenowych. Nie stwierdzono jednak sygnałów pochodzących z pierścieni aromatycznych. Autorzy ci uważali, że ich brak mógł być wynikiem podstawienia pierścieni aromatycznych przez atomy inne niż wodór lub też interferencji sygnałów NMR z wolnymi rodnikami, występującymi w dość dużej ilości w kwasach fulwowych i frakcjach z nich pochodzących.

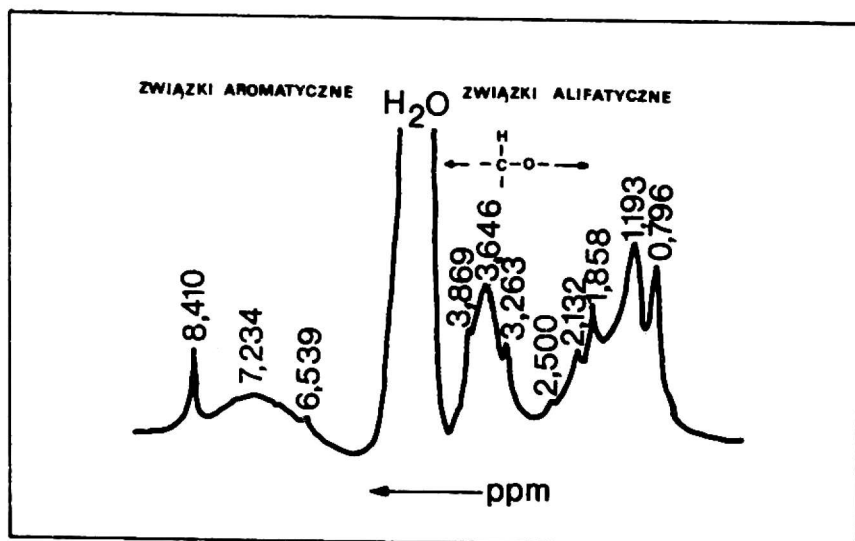
Dopiero wprowadzenie techniki Fourierowskiej oraz zastosowanie NaOD jako rozpuszczalnika w spektroskopii NMR substancji humusowych pozwoliło na otrzymanie już w pełni informacyjnych widm protonowych i węglowych. Pierwsze takie informacyjne widma ^1H kwasów humusowych otrzymali Luedemann i współpracownicy /rys.2/ oraz Lentz i współpracownicy [11, 12].



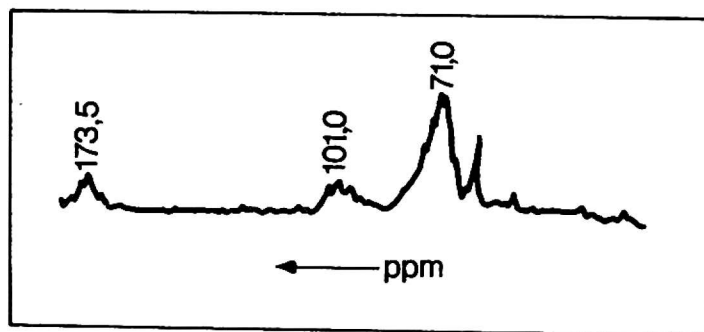
Rys. 6. Widmo ^{13}C kwasu humusowego
- Newman i współpr. [14]

Ci ostatni badali substancję organiczną z warstw A i B i wykazali różnice w widmach obydwóch ekstraktów. W warstwie B /rys. 3/ wodory pochodzące z pierścieni aromatycznych stanowiły 34% ,

natomiast w warstwie A /rys. 4/ ich odsetek zależał od pH roztworu ekstrahującego: w pH 14 wynosił on 19%, zaś w pH 4,5 35%. Natomiast pierwsze wartościowe widma ^{13}C dwóch kwasów humusowych i jednego fulwowego otrzymali Gonzalez Vila i współpracownicy [6] /rys. 5/. Zaobserwowano w nich 3 grupy sygnałów: 200-170 ppm /grupy karboksylowe/, 160-100 ppm /węgle aromatyczne/, 100-10 ppm /węgle alifatyczne/. Widmo ^{13}C kwasu humusowego otrzymanego przez Newmana 14 przedstawia rysunek 6, natomiast rysunek 7 ilustruje widmo ^1H kwasu humusowego wykonane przez Wilsona i współpracowników [32].



Rys. 7. Widmo ^1H kwasu humusowego - Wilson i współpr. [32]



Rys. 8. Widmo ^{13}C kwasu fulwowego - Wilson i Goh [33]

Wilson i Goh [33] badając kwasy humusowe i fulwowe za pomocą spektrometrii ^1H i ^{13}C nie wykryli jednak sygnałów z węgla aromatycznych /rys. 8/, dlatego też przychyliłi się do opinii, że substancje humusowe nie mają charakteru silnie aromatycznego i że chociaż część rdzenia substancji humusowych może mieć charakter aromatyczny, jest jednak humus raczej przypadkową mieszaniną wysokocząsteczkowych polimerów ze stosunkowo małą zawartością związków o charakterze aromatycznym.

Sciacovelli i współpracownicy otrzymali widma ^1H oraz ^{13}C frakcji materii organicznej otrzymanej dzięki ekstrahowaniu rozpuszczalnikami organicznymi o różnej polarności [28, 29], Ruggiero i współpracownicy wykonali widma ^1H kwasów humusowych i fulwowych oraz produktów ich degradacji za pomocą kwasu nadoctowego [18], frakcji materii organicznej otrzymanych za pomocą chromatografii żelowej [19] oraz metylowanych nie metylowanych kwasów fulwowych [23]; autorzy ci akcentowali istotność struktur aromatycznych w kwasach humusowych i fulwowych [20] oraz podkreślali szczególną użyteczność widm ^1H w określeniu ich roli [21].

Ostatnie udoskonalenia techniki NMR, tj. wprowadzenie polaryzacji krzyżowej, zwiększającej czułość metody, odsprężania protonu, redukującego poszerzenie linii i zwiększającego czułość oraz wprowadzenie szybkiej rotacji badanej próbki o osi ustawionej pod tzw. kątem magicznym $/54,7^\circ/$ w stosunku do zewnętrznego pola magnetycznego pozwoliło na otrzymanie wysokiej rozdzielczości widm substancji humusowych w stanie stałym [2, 14, 26, 31, 32, 34]. Połączenie tych udoskonaleń, czyli wprowadzenie techniki CPMAS, zapoczątkowało badania porównawcze struktury substancji humusowych z różnych źródeł /rys. 9/.

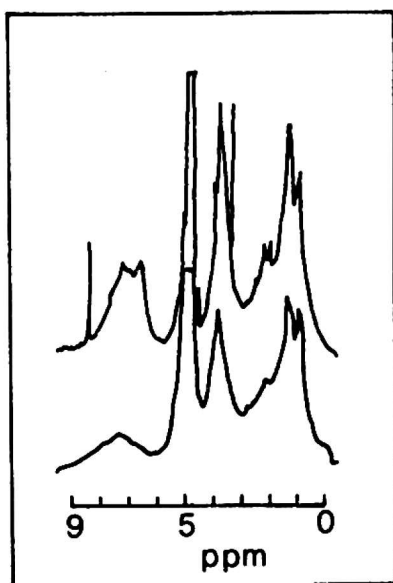
Wygnały pochodzące od węgla aromatycznych mogą być w technice CPMAS wyraźnie odróżnione od sygnałów pochodzących z grup karboksylowych, eterowych i metoksyloowych. Spektrometria NMR pozwoliła skorygować niektóre dane analityczne, przede wszystkim zaś zawartość grup funkcyjnych w kwasach humusowych [10]. Węgłe związane z grupami fenolowymi, które w przeszłości uważano za integralne składniki bloków budujących kwasy humusowe z gleby nie są ważnymi składnikami widm NMR. Być może metody chemicznego określania ich liczby dają wyniki zawyżone, zwłaszcza że liczbę grup OH oblicza się jako różnicę między całkowitą kwasowością a liczbą grup karboksylowych, przy czym błędy mogą ulegać zwielokrotnieniu z tego względu, że określenie całkowitej kwasowości oraz liczby grup karboksylowych za pomocą metod chemicznych w strukturach tak złożonych jak substancje humusowe nie może być dokładne i sprawa ta wymaga dalszych badań. Zawartość grup karboksylowych w kwasach humusowych określana za pomocą NMR jest natomiast większa $/5,9-11\%/$ niż liczba tych grup wyznaczona za pomocą metod chemicznych $/3,1-9,1\%/$. Liczba tych grup określona metodą NMR jest równa cał-



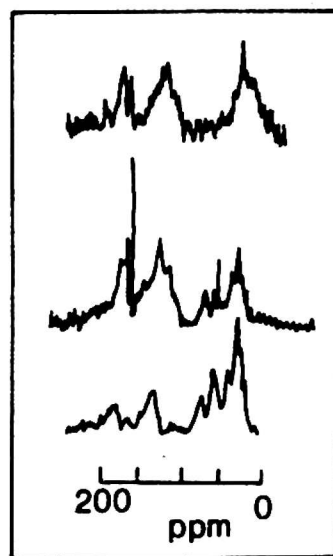
Rys. 9. Widma ^{13}C kwasów humusowych /a, b/ i kwasu fulwowego /c/ wykonane techniką CPMAS [26]

kwowej kwasowości, co wskazuje że całkowita kwasowość odnosi się przede wszystkim do zawartości grup karboksylowych a grupy fenolowe wydają się nie odgrywać w tym przypadku większej roli.

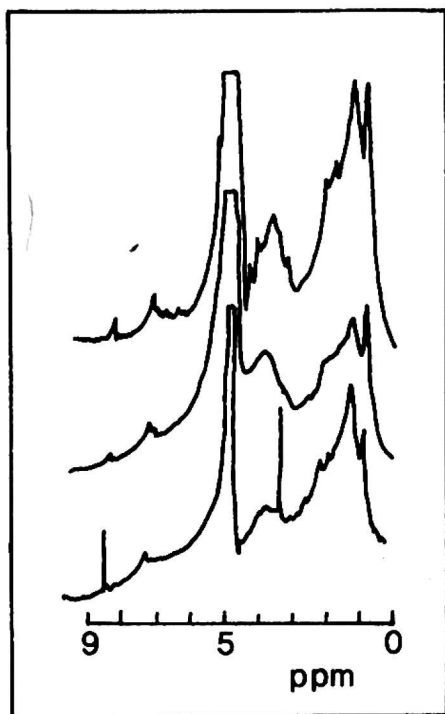
Za pomocą CPMAS można również bez trudu określić aromatyczność preparatu humusowego, tj. odsetek węgla występujących jako aromatyczne, a następnie otrzymane wyniki porównać z aromatycznością określoną innymi metodami, np. za pomocą oksydacji chemicznej. Badania wykonane za pomocą CPMAS wykazały, że kwasy humusowe mają wysoką aromatyczność, wahającą się między 35 a 92%, z tym jednak, że określone za pomocą tej metody wartości są znacznie niższe od otrzymanych dla tych samych preparatów metodami chemicznymi [19]. Wydaje się w związku z tym, że metody degradacji



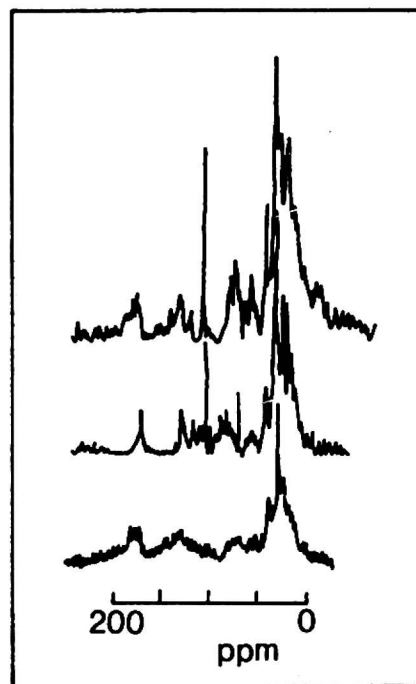
Rys.10. Widma ^1H kwasów humusowych z gleby [9]



Rys.11. Widma ^{13}C kwasów humusowych z gleby [9]



Rys.12. Widma ^1H kwasów humusowych z osadów morskich [9]



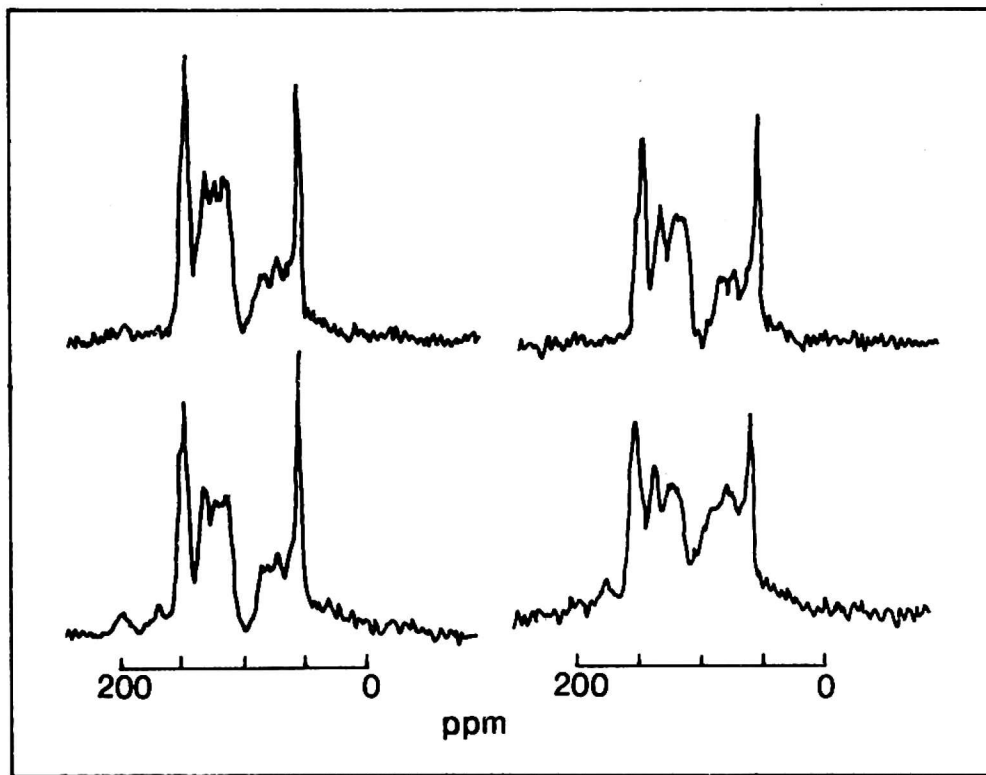
Rys.13. Widma ^{13}C kwasów humusowych z osadów morskich [9]

chemicznej, zwłaszcza zaś utlenianie za pomocą KMnO_4 , prowadzą do intensywnego utleniania struktur alifatycznych, jak to wynika z aromatyczności preparatów, które w przypadku określania za pomocą degradacji chemicznej osiągają wyższe wartości niż w przypadku wartości obliczonych za pomocą spektrometrii NMR. Metody degradacji chemicznej nie dostarczają więc informacji co do natury struktur alifatycznych i wydaje się, że w przeszłości tej części humusu poświęcono zbyt mało uwagi [9, 10, 27].

Spektrometria NMR, przede wszystkim zaś badania porównawcze kwasów numusowych glebowych i morskich, dostarczyły również nieco więcej danych na temat pochodzenia i syntezy substancji humusowych [8, 9]. Ligniny oraz produkty degradacji resztek roślinnych i zwierzęcych uważane są za główne substancje wyjściowe do syntezy związków humusowych w glebach, natomiast melanoidyny, produkty kondensacji węglowodanowo-białkowej przyjmuje się jako produkty wyjściowe kwasów humusowych w osadach morskich [9].

Jak widać z rysunków 10 i 11 sygnały pochodzące z węgla parafinowych /0-2,5 ppm w widmach ^1H oraz 0-40 ppm w widmach ^{13}C / są wyraźnym składnikiem kwasów humusowych z gleby [9]. Sygnały pochodzące od protonów i węgla aromatycznych /odpowiednio 6,5-8 oraz 110-160 ppm/ występują także, lecz w różnej ilości. Struktury parafinowe w widmach ^1H oraz ^{13}C można rozdzielić na kilka wyraźnie różniących się pików, a ilościowe podobieństwo między nimi we wszystkich preparatach kwasów humusowych przemawia za ich bliskim pokrewieństwem strukturalnym, tj. występowaniu wspólnego składnika parafinowego. Chociaż związki alifatyczne obserwowano w kwasach humusowych pochodzących z różnych źródeł jednak dopiero spektrometria NMR wykazała, że składnik ten odgrywa bardziej istotną rolę w strukturze substancji humusowych z gleby niż to dotychczas przypuszczano. Jak można założyć, metody degradacji chemicznej, stosowane do badań strukturalnych, dostarczyły zawyżonych wyników co do ilości związków aromatycznych, a tym samym przesadnych informacji o roli struktur aromatycznych w kwasach humusowych.

W kwasach humusowych z osadów morskich struktury alifatyczne dominują i to zarówno w widmach ^1H , jak ^{13}C /rys. 12 i 13/, ponadto widoczna jest słaba aromatyczność preparatów [8]. Jest rzeczą charakterystyczną, że piki alifatyczne w kwasach humusowych morskich podobne są do pików humusowych z gleby. Wyraźne piki, w widmach węglowych przy 10, 18, 22, 25, 30, 37 oraz 40 ppm, wskazują na specyficzną i powtarzającą się konfigurację a nie tylko przypadkową mieszaninę struktur parafinowych. We wszystkich widmach dominuje wyraźny pik przy 30 ppm. Ta wartość przesunięcia chemicznego jest charakterystyczna dla węglowodorów o długich łańcuchach oraz cyklicznych węglowodorów alifatycznych. Hatcher i współpracownicy [9] wykazali, że węgle parafinowe w morskich kwasach humusowych są mocno rozgałęzione i usieciowane z racji stosunku $\text{H/C}=1,5$ oraz występowania silnego rezonansu w widmach ^1H , pocho -

Rys. 14. Widma ^{13}C lignin [9]

dzącego z grup metylowych. Jak widać, kwasy humusowe z osadów morskich jako takie charakteryzują się obecnością złożonych struktur parafinowych i że podobne struktury są także istotnymi składnikami kwasów humusowych z gleby. Można więc przyjąć, że podobne sytuacje wyjściowe oraz podobne mechanizmy odpowiedzialne są za tworzenie kwasów humusowych w obydwóch środowiskach. Główną różnicą między kwasami humusowymi glebowymi a morskimi jest występowanie w tych pierwszych wyraźnego składnika aromatycznego, pochodzącego jak można sądzić z lignin. Jednak, mimo że niektóre struktury w kwasach humusowych glebowych pochodzą prawdopodobnie z aromatycznych reszt ligninowych, występowanie struktur parafinowych nie może być wyjaśnione na bazie ich pochodzenia z tego źródła [16].

Jak widać z widm ^{13}C lignin /rys. 14/, rezonans dotyczy tylko atomów węgla aromatycznych oraz węgla podstawionych grupami metoksyłowymi lub tlenem, nie obserwuje się natomiast przesunięcia chemicznego 0-50 ppm, charakterystycznego dla nie podstawionych węgla alifatycznych. Można więc przyjąć, że część alifatyczna kwasów humusowych pochodzi z innych źródeł niż ligniny. Przyjmuje się w związku z tym, że w szczególności substancje tworzone de novo przez mikroorganizmy glebowe oraz lipidy żyjących w glebie glonów mogą być źródłem struktur alifatycznych w humusie glebowym [13]. Brak lignin w środowiskach wodnych może być natomiast powodem nie-

obecności struktur aromatycznych w kwasach humusowych z osadów morskich. Tak więc z tego względu, że źródłem kwasów humusowych w tych osadach są przede wszystkim reszty pochodzące z glonów i bakterii, kwasy te mają bardziej homogenny, głównie alifatyczny charakter, natomiast kwasy humusowe w glebach pochodzą co najmniej z dwóch źródeł, tj. podobnie jak kwasy humusowe morskie z reszt pochodzących z glonów i bakterii /składnik alifatyczny/ oraz z lignin /część aromatyczna/, dlatego też mają charakter bardziej heterogenny, alifatyczno-aromatyczny.

LITERATURA

1. Anderson H., Russel.: Nature, 260, 597, 1976.
2. Barron P.F., Wilson M.A., Stephens J.F., Cornell B.A., Tate K. R.: Nature, 286/5773, 585-587, 1980.
3. Barton D.H.R., Schnitzer M.: Nature, 198, 217-218, 1963.
4. Burns R.G.: Microbial adhesion to soil surfaces: consequences for growth and enzyme activities./w:/ Microbial Adhesion to Surfaces; Ed. R. C. W. Berkeley, J. M. Lynch, J. Melling, P. R. Rutter, B. Vincent; E. Horwood, Chichester, 249-262, 1980.
5. Cheshire M.V., Cronwell P.A., Falshaw C.P., Floyd A.J., Haworth R.D.: Tetrahedron, 23, 1669-1682, 1967.
6. Gonzalez Vila F.J., Lentz H., Luedemann H.D.: Biochem. Biophys. Res. Commun., 72/3, 1063-1070, 1976.
7. Goodman B.A.: Some physical methods for the study of the chemical composition of soils and plants./w:/ Soils and Agriculture, Ed. P. B. Tinker; J. Wiley and Sons, Inc., New York, 115-145, 1981.
8. Hatcher P.G., Rowan R., Mattingly M.A.: Org. Geochem., 2, 77 - 85, 1970.
9. Hatcher P.G., Maciel G.E., Dennis L.W.: Org. Geochem., 3, 43-48, 1981.
10. Hatcher P.G., Schnitzer M., Dennis L.W., Maciel G.E.: Soil Sci. Soc. Amer. J., 45/6, 1089-1094, 1981.
11. Lentz H., Luedemann H.D., Ziechmann W.: Geoderma, 18, 325-328, 1977.

12. Luedemann H.D., Lentz H., Ziechmann W.: *Erdoel und Kohle-Erdgas-Petrochemie vereinigt mit Brennstoffchemie*. 26/9, 506-409, 1973.
13. Méndez J., Ogner G.: *Chem. Geol.*, 27, 265-270, 1979.
14. Newman R.H., Tate K.R., Barron P.F., Wilson M.A.: *J. Soil Sci.*, 31, 623-631, 1980.
15. Neyroud J.A., Schnitzer M.: *Structure chimique des acides humiques et fulviques du sol./w:/ Soil Organic Matter Studies, Vol. II*, International Atomic Energy Agency, 157-169, Wien 1977.
16. Ogner G.: *Soil Biol. Biochem.*, 11, 105-108, 1979.
17. Orrell K.G.: *Nuclear magnetic resonance spectroscopy of paramagnetic species./w:/ Nuclear Magnetic Resonance*, 10, Ed. G. A. Webb; Royal Society of Chemistry, 1-124, London 1981.
18. Ruggiero P., Interesse F.S., Cassidei L., Sciacovelli O.: *Geochim. Cosmochim. Acta*, 44, 603-609, 1980.
19. Ruggiero P., Interesse F.S., Cassidei L., Sciacovelli O.: *Soil Biol. Biochem.*, 13, 361-366, 1981.
20. Ruggiero P., Interesse F.S., Sciacovelli O.: *Geochim. Cosmochim. Acta*, 43, 1771-1775, 1979.
21. Ruggiero P., Interesse F.S., Sciacovelli O.: *Soil Biol. Biochem.*, 12, 297-299, 1980.
22. Ruggiero P., Interesse F.S., Sciacovelli O.: *Geochim. Cosmochim. Acta*, 45, 491-492, 1981.
23. Ruggiero P., Sciacovelli O., Testini C., Interesse F.S.: *Geochim. Cosmochim. Acta*, 42, 411-416, 1978.
24. Schnitzer M.: *Agrochimica*, XXII/3-4, 216-225, 1978.
25. Schnitzer M.: *Humic substances: chemistry and reactions /w:/ Soil Organic Matter*, Ed. M. Schnitzer, S. U. Khan, Elsevier Sci. Publ. Co., Amsterdam, 1-64, 1978.
26. Schnitzer M.: *Recent advances in humic acid research. Proc. Int. Peat Symp., Bemidji, Minnesota, October 21-23*, 17-44, 1981.
27. Schnitzer M., Meyroud J.A.: *Fuel*, '54, 17-19, 1975.
28. Sciacovelli O., Senesi N., Solinas V., Testini C.: *Soil Biol. Biochem.*, 9, 287-293, 1977.

29. Sciacovelli O., Gessa C., Ruggiero P., Testini C.: *Soil Biol. Biochem.*, 12, 389-395, 1980.
30. Steelink C.: *J. Chem. Educ.*, 54, 599-603, 1977.
31. Wilson M.A.: *J. Soil Sci.*, 32, 167-186, 1981.
32. Wilson M.A., Barron P.F., Goh K.M.: *J. Soil Sci.*, 32, 419-425, 1981.
33. Wilson M.A., Goh K.M.: *J. Soil Sci.*, 28, 645-652, 1977.
34. Wilson M.A., Pugmire R.J., Zilm K.W., Goh K.M., Heng S., Grant D.M.: *Nature*, 294/5842, 648-650, 1981.
35. Young S.D., Bache B.W., Welch D., Anderson H.A.: *J. Soil Sci.*, 32, 579-592, 1981.

Ежи Паха

Структура гумусных веществ в свете спектрометрии
магнетического ядерного резонанса

Резюме

Спектроскопия магнетического ядерного резонанса /NMR/ является одной из самых лучших исследовательских техник, применяемых в исследованиях химической структуры органических соединений. Первые вполне информативные спектры ^{13}C гуминовых и фульвовых кислот были получены Гонзалесом Вила, Лентцем и Людеманном в 1976 г., причем техника NMR использовалась уже раньше в исследованиях структуры гумусных веществ, однако ввиду того, что в начале использовали в качестве растворителей органические соединения, получали неудовлетворительные спектры гуминовых кислот ^1H из почвы при использовании NaOD в качестве растворителя. Эти спектры были уже полностью информативными и можно было в них четко различать протоны происходящие как из алифатической так и ароматической частей гуминовой кислоты. Благодаря новой так называемой технике CPMAS /cross polarization magic-angle spinning/ можно получать высокой разделности спектры гумусных веществ в твердом состоянии. Указанный метод может использоваться в сравнительных количественных исследованиях гумуса из раз-

ных источников. Значения ароматичности гуминовых кислот, определяемые с помощью $CPMAS$, гораздо ниже значений получаемых разными химическими методами, которые, особенно деградация с помощью $KMnO_4$, приводят к сильному окислению анализируемых алифатических структур. Поэтому методы химической деградации не информируют о природе алифатических структур в гуминовых кислотах и, можно думать, этим важным компонентом гумуса уделяли прежде слишком мало внимания. Углероды, связанные с фенольными группами, которые раньше считались интегральными составными блоками, строящих гуминовые кислоты почвы, представляются не особенно важными элементами спектров NMR . Содержание карбоксильных групп в гуминовых кислотах, определяемое с помощью NMR выше, чем число этих групп, определяемое химическими методами, и равно общей кислотности, из чего следует, что общая кислотность относится, прежде всего, к содержанию карбоксильных групп, а фенольные группы не играют, как кажется в данном случае, более значительной роли.

Хотя алифатические соединения были идентифицированы в гуминовых кислотах, происходящих из разных источников, то лишь спектрометрия NMR показала, что они представляют собой очень существенный компонент этих веществ. С помощью сравнительных исследований гуминовых кислот из почвы и морских отложений можно также было констатировать, что парафиновые структуры играют гораздо более существенную роль в гуминовых кислотах, чем предполагалось до сих пор. Характерным признаком гуминовых кислот из морских отложений является наличие в них комплексных парафиновых структур, являющихся одновременно составными гуминовых кислот из почвы. Это наблюдение позволяет предполагать, что подобные механизмы являются ответственными за образование гуминовых кислот в обеих средах. Основным различием между водными и почвенными гуминовыми кислотами является наличие в последних ароматических структур, происходящих из лигниновых остатков. Незамещенные

алифатические структуры в морских гуминовых кислотах сходны с теми же структурами, наблюдаемыми в спектрах NMR гуминовых кислот из почвы. Принято, что исходными веществами в синтезе морских гуминовых кислот являются остатки альг и бактерий, а также возможно, что липиды альг и бактерий являются также ответственными за наличие алифатических структур в почвенных гуминовых кислотах. Отсутствие же легинов в водной среде может являться причиной отсутствия ароматических структур в гуминовых кислотах из морских отложений.

Jerzy Pascha

STRUCTURE OF HUMIC SUBSTANCES IN THE LIGHT
OF NUCLEAR MAGNETIC RESONANCE

S u m m a r y

Nuclear magnetic resonance spectroscopy /NMR/ is a most valuable technique for elucidating the chemical structure of organic molecules. Prior to the first definitive report on ^{13}C NMR spectra of humic and fulvic acids by Gonzalez Vila, Lentz and Luedemann in 1976, a few reports appeared on ^{13}C spectra of these compounds, however, reports on organic solvent extracts of humic substances and the NMR results were disappointing. Lentz, Luedemann and Ziechmann in 1977 reported on ^1H NMR spectra of soil humic acids obtained in NaOD solutions. The spectra were quite informative as both aromatic and aliphatic protons were clearly presented. A new technique called „cross polarization, magic-angle spinning /CPMAS/“ makes possible to obtain high resolution of ^{13}C NMR spectra of solid samples. This method can be used for the quantitative structural analysis of humic materials from widely differing sources. Aromaticities for humic acids examined by the CPMAS method are significantly lower than those previously calculated by chemical degradation methods, which, especially the KMnO_4 oxidation, appear to result in extensive oxidation of aliphatic structures. Therefore, chemical degradation provide no information as to the nature of the aliphatic structures of humic acids and that these significant components of humic acids have been rather igno-

red in the past. Phenolic carbons, which previously were considered to be integral building blocks of soil humic acids, do not appear to be important contributors to signals in NMR spectra. The carboxyl contents of humic acids, as calculated from NMR spectra, are greater than those calculated by wet chemical methods, suggesting that the latter may have been underestimated. However, the former measurements for carboxyl groups are consistent with the values for total acidities. This suggests that total acidity of humic acids is related almost entirely to their carboxyl contents and that phenolic carbons are not major contributors to total acidities.

Although aliphatic moieties have been identified in various soil humic acids, the relatively large quantities indicated by the NMR spectra have not been recognized previously. Mounting evidence, based on comparative NMR spectra of marine and soil humic acids, suggests that paraffinic structures have a more conspicuous structural role in the formation of the various terrestrial humic acids. Marine humic acids are characterized by complex paraffinic structures and similar structures are also major components in some terrestrial humic acids. This observation strongly suggests that similar source materials and/or mechanisms are involved in the formation of humic acids from both environments. The only major difference between terrestrial and aquatic humic acids is the existence of aromatic structures most likely derived from lignin residues in the former case. Unsubstituted aliphatic structures of marine humic acids are similar to those of terrestrial systems in NMR spectra. As marine humic acids are thought to be derived predominantly from marine algal or bacterial residues and as unsubstituted aliphatic structures predominate, it appears likely that algal or possible bacterial lipids are also responsible for aliphatic structures in terrestrial humic acids. The absence of lignin in aquatic systems accounts for the paucity of aromatic chemical structures in marine humic acids.